HUGO DE VRIES
OPERA
E PERIODICIS COLLATA

VOL. II

HUGO DE VRIES OPERA E PERIODICIS COLLATA

HUGO DE VRIES
OPERA
E PERIODICIS COLLATA

VOL. II

UTRECHT — A. OOSTHOEK — MCMXVIII.

Boek- en Kunstdrukkerij VONK & Co. te Zeist.

INHOUD VAN DEEL II.

OVER DE CONTRACTIE VAN WORTELS.

Sedert Engelmann's onderzoekingen is het algemeen bekend, dat de contractie van spieren op een eigenaardige werkzaamheid van bepaalde vormbestanddeelen, de zoogenoemde spierstaafjes, berust, waarbij deze uit de stof waarin zij liggen water opnemen, en zich daardoor verbreeden en verkorten. De opneming van water geschiedt door imbibitie; daarbij wordt de spiermassa stijver. Na de contractie verliezen de spierstaafjes het opgenomen water, worden langer en smaller, en de spier herneemt haar vroegeren vorm.

De tot nu toe bekende verschijnselen van contractie van planten-organen berusten op een geheel ander beginsel; daarbij toch verliezen de cellen water; vóóraf gespannen celwanden contraheeren zich elastisch en worden slapper. Zoo b. v. in de bladgewrichten van Mimosa en in de meeldraden der Cynareeën.

De onderzoekingen van Engelmann deden in mij den wensch ontstaan een tot nu toe nooit bestudeerd proces van contractie in het plantenrijk, n. l. de contractie der wortels, nader te leeren kennen, en na te gaan of dit wellicht een grootere overeenkomst met de samentrekking van dierlijke organen vertoont dan de overige contractieverschijnselen van plantendeelen.

In de volgende regels wensch ik de voornaamste uitkomsten van mijn onderzoek in het kort mede te deelen.

Vooreerst een enkel woord over het verschijnsel zelf, dat, naar het schijnt, minder algemeen bekend is dan het verdient.

Het is voor planten van groot belang zoo stevig mogelijk in den grond bevestigd te zijn. Wanneer de grond in het voorjaar tijdens het kiemen der zaden zeer vochtig en daardoor zeer los is, en dan in den zomer uitdroogt en inkrimpt, zouden de wortels der jonge planten noodzakelijk boven den grond moeten komen. Dit gebeurt niet, integendeel, men ziet den wortelhals gewoonlijk in den zomer en in het najaar dieper in den grond verborgen dan in het voorjaar. De planten kruipen dus, als men het zoo noemen mag, den grond in, en dit kan natuurlijk slechts door een samentrekking der wortels geschieden. Zulk een samentrekking vindt dan ook werkelijk plaats; ik heb mij daarvan vroeger door recht-

streeksche metingen der wortels overtuigd. Zij bedroeg bij roode klaver en suikerbieten in 3—6 weken 10—15 pCt., soms zelfs 20—25 pCt. der lengte.

De buitenste schors wordt bij deze contractie passief samengedrukt en verkrijgt daardoor talrijke dwarsplooien, die men aan oudere wortels zeer dikwijls zien kan, en die als bewijs kunnen dienen, dat de wortel zich gecontraheerd heeft. Ik zag deze rimpels o. a. bij *Hyacinthus orientalis, Narcissus, Allium Cepa, Iris pallida, Carum Carvi, Conium maculatum, Trifolium pratense, Dipsacus sylvestris, Althaea rosea, Rumex Acetosa, Eryngium maritimum.* Men behoeft slechts niet al te jonge planten dezer soorten uit te trekken om vlak onder den wortelhals deze rimpels zeer duidelijk te zien.

In den zomer van 1878 en 1879 heb ik met contractiele wortels de volgende resultaten verkregen.

1°. Brengt men de afgesneden wortels in water, zoo verkorten zij zich. Deze verkorting is in de eerste uren vrij snel, en neemt dan in snelheid af, doch duurt meestal eenige dagen. Zij bedroeg b. v. bij:

Lappa tomentosa	in 3 dagen	7.9 pCt.
Dipsacus sylvestris	„ 3 „	4.0 „
Carum Carvi	„ 2 uur	1.4 „
„ „	„ 3 dagen	6.0 „

2°. Bij het liggen in water nemen de wortels in dikte toe; deze dikteverandering kan aan dunne schijfjes onder den mikroskoop reeds binnen eenige minuten gemeten worden. Bij 8-malige vergrooting vond ik haar o. a. bij:

Carum Carvi	8 pCt.
Beta vulgaris	6 „
Conium maculatum	8 „

3° De wortels nemen in water aan volumen toe en worden daarbij stijver; het eerste vond ik door bepaling van de mate van verkorting en verbreeding van een zelfde weefselstuk en berekening der volumen-verandering.

4°. Isoleert men de verschillende weefsels van een contractielen wortel, zoo ondergaan zij in water dezelfde veranderingen als de geheele wortel. Deze veranderingen zijn echter in de jongere deelen

krachtiger dan in de oudere. Ik vond de verkorting bij Cynara Scolimus in 20 uur:

voor de schors	2	pCt.
voor het peripherische houtweefsel .	7	„
voor het centrale houtweefsel	3	„

En de verbreeding bij dezelfde plant, in 1 uur, bij 22-malige vergrooting:

voor de schors	15	pCt.
voor het cambium	18	„
voor het centrale hout	9	„

5°. Oudere wortels verkorten zich in water niet meer.

6°. De parenchymcellen zijn de contractiele elementen; de overige cellen gedragen zich passief, en bieden bij de contractie een weerstand. In de wortels van kruidachtige planten is het parenchym op zoo sterke wijze ontwikkeld, dat men zich niet verwonderen kan, dat dit weefsel hier een bizondere physiologische rol te spelen heeft. Deze rol is nu klaarblijkelijk die der contractie. Zoowel in de schors als in het hout is het parenchym sterk ontwikkeld; beide contraheeren zich in water. Het gelukte mij ook onder den mikroskoop de verkorting en verbreeding bij wateropneming aan afzonderlijke parenchymcellen rechtstreeks waar te nemen.

De kurklaag der schors is passief; dit ziet men uit de boven beschreven dwarsplooien. Ook de houtvaten zijn passief; ook zij zijn door de contractie samengedrukt en heen en weergebogen, gelijk men op overlangsche sneden duidelijk zien kan. Ook de bastvezels en overige dikwandige elementen moeten als passief beschouwd worden. Bedenkt men dat het weefsel van wortels zoo uiterst arm aan houtvaten, houtvezels en bastvezels is, en een zoo dunne kurklaag bezit, dan ligt het voor de hand, hierin een zeer doelmatige adaptie te zien, wier doel het is, den weerstand bij de contractie zoo gering mogelijk te maken.

De vereeniging van actief zich contraheerende en passief gecontraheerde weefsels moet natuurlijk weefselspanningen ten gevolge hebben. In werkelijkheid bestaan deze dan ook, gelijk men uit de grootte-veranderingen der afzonderlijke weefsels bij het isoleeren ziet. Bij onvolledige isoleering krommen zich de deelen.

7°. De contractie door opneming van water is een verschijnsel

van turgor; zij wordt opgeheven door alle middelen die den turgor vernietigen. Men ziet dit b. v. daaruit, dat wortels zich bij het verwelken verlengen, in plaats van zich, gelijk groeiende stengeldeelen, te verkorten. Men kan den turgor door dooden van het protoplasma, of door de inwerking van zoutoplossingen opheffen; in beide gevallen verlengen zich de wortels. In de dwarsrichting krimpen zij daarbij echter in.

8°. In de levende wortels zijn de celwanden door den turgor der cellen gespannen, en daardoor in de richting der as verkort. Men ziet dit, wanneer men de wortels niet, zooals sub 7, eerst water later opnemen en dan den turgor vernietigt, maar ze terstond van dezen berooft. Zij verlengen en versmallen zich daarbij evenzeer, hoewel natuurlijk in mindere mate.

9° Wortels, die het vermogen bezitten zich door opneming van water in korten tijd sterk te contraheeren, vertoonen in de natuur in lange tijden blijvende verkorting. Want juist die wortels, aan welker rimpels men de blijvende verkorting het duidelijkst ziet, contraheeren zich in water het sterkst. Met deze blijvende verkorting moet een blijvende toeneming in dikte gepaard gaan.

10°. Het valt niet te betwijfelen, dat in contractiele wortels de turgor dezelfde rol speelt als in jonge groeiende stengeltoppen. De groeiende cellen worden door haren turgor uitgerekt en wel in overlangsche richting meer dan in de dwarsche; deze uitrekking bevordert haren groei. Evenzoo is het met de cellen der contractiele wortels gelegen; deze worden echter in de dwarsche richting het sterkst uitgerekt, en daarbij in overlangsche richting verkort. Het is duidelijk, dat de blijvende verandering bij de wortels, evenals bij de stengels, door groei veroorzaakt wordt. Dus is de contractie der wortels slechts een bizonder geval van groei.

11°. De contractie door toeneming van den turgor kan slechts door een groot verschil in rekbaarheid der celwanden in verschillende richtingen verklaard worden. Want de uitrekkende kracht is natuurlijk in alle richtingen dezelfde. Ongelijke rekbaarheid in verschillende richtingen is een zeer algemeen verschijnsel bij plantaardige celwanden; doch zoover mij bekend is, werd tot nu toe nog nooit een zoo groot verschil aangetroffen, dat door toeneming van den turgor een kleiner worden der cellen in eene richting werd veroorzaakt. Hiertoe toch moet het verschil in rekbaarheid zoo groot zijn, dat de contractie in ééne richting, die het natuurlijk gevolg is van de uitrekking in de richting loodrecht daarop, door een even groote uitrekkende kracht niet opgeheven kan worden. Dit

geval vinden wij in de celwanden van het contractiele parenchym der wortels.

12°. De contractie der wortels verschilt van die der spieren voornamelijk daarin, dat zij haren zetel in parenchymcellen heeft, en door verhooging van de spanning tusschen den wand en den inhoud van dezen veroorzaakt wordt. Verder daarin, dat zij blijvende veranderingen door groei tengevolge heeft.

Beide verschijnselen komen daarin overeen, dat de contractiele elementen (contractiele cellen en spierstaafjes) zich door opneming van water verkorten, terwijl zij daarbij dikker en stijver worden.

(Verslagen en Mededeelingen der Koninklijke Akademie van Wetenschappen, Afd. Natuurkunde. 2de Reeks. Deel XV, p. 12).

SUR L'INJECTION DES VRILLES,

COMME MOYEN D'ACCÉLÉRER LEURS MOUVEMENTS. 1)

Des expériences antérieures m'avaient appris que, lorsque les vrilles se meuvent sous l'influence d'irritations, la force de turgescence du parenchyme augmente. Par le nom de force de turgescence je désigne la force avec laquelle le contenu des cellules vivantes distend la membrane cellulaire (*Zellstreckung*, voir Vol. I. p. 362). On sait que cette distension résulte de ce que le contenu des cellules enlève de l'eau à son entourage, et par là agrandit le volume des cellules.

Mais, à lui seul, un accroissement de la force d'attraction sur l'eau ne peut produire un agrandissement des cellules, ni par conséquent le mouvement de la vrille. Il faut aussi, bien entendu, que les cellules trouvent à leur portée de l'eau, qu'elles puissent absorber. Dans les circonstances ordinaires, elles doivent soustraire cette eau à d'autres cellules, qui à leur tour sont obligées de l'emprunter au xylème des faisceaux vasculaires. Cela, nécessairement, occasionne un ralentissement du mouvement.

En supposant donc que l'eau pût être offerte directement et sans forces antagonistes aux cellules du parenchyme, une accélération considérable du mouvement devrait en être la conséquence. Réciproquement, une pareille accélération du mouvement, déterminée par une absorption plus facile, serait une preuve que la force d'attraction sur l'eau a réellement augmenté, et même on pourrait trouver dans la grandeur de cette accélération une mesure, grossière il est vrai, de la variation de la force en question.

Cette dépendance entre la force de turgescence et la présence de l'eau mérite d'être considérée d'un peu plus près. D'après les vues qui ont servi de point de départ à mes recherches sur ce sujet2), le protoplasma, dans les circonstances ordinaires, est imperméable au liquide de la vacuole; la tension élastique de la paroi cellulaire ne peut pas expulser ce liquide. Ce n'est que par voie osmotique qu'un échange de matières est possible. Parmi les ma-

1) Voir Vol. I. p. 584.

2) Voir Vol. I p. 86.

tières dont il y a lieu de tenir compte ici, l'eau est la seule, toutefois, qui puisse se mouvoir à travers le protoplasma avec une vitesse suffisante; à en juger d'après le résultat de mes recherches[1]), les autres matières qui se trouvent dans le contenu des cellules ne traversent pas le protoplasme, dans un court espace de temps, en quantités appréciables. Dès qu'une cellule parenchymateuse vient en contact avec l'eau, elle tendra donc à absorber cette eau et, par suite, à se gonfler. Mais, à mesure que le volume augmente, la tension élastique de la paroi augmente aussi, et il finira par s'établir un état d'équilibre entre la force de turgescence et cette tension élastique. Une molécule d'eau, attirée vers le contenu par la force de turgescence, sera alors repoussée avec la même énergie par la pression des parois cellulaires; aucun accroissement de volume ne pourra plus avoir lieu. Dans cet état, toute la force de turgescence est donc active.

Supposons maintenant que, par l'une ou l'autre cause, la force de turgescence croisse subitement, mais que la cellule ne soit pas entourée d'eau ni d'autres cellules. Cette cellule sera empêchée d'agrandir son volume. Dans cet état, on peut donc dire que la force de turgescence est partiellement inactive. Seulement quand la cellule aura une nouvelle quantité d'eau à sa disposition, la force de turgescence pourra s'employer intégralement, seulement alors elle deviendra active tout entière[2]).

Il suit de là que, lorsque l'eau n'est pas amenée en quantité suffisante à un tissu, la force de turgescense pourra, dans des circonstances données, être en partie inactive. Dans ce cas, un apport artificiel d'eau fera donc subitement entrer cette force tout entière en action et par conséquent déterminera un accroissement de volume.

Réciproquement, de l'observation d'une rapide dilatation à la suite d'un apport d'eau, il sera permis de conclure que la force de turgescence des cellules était partiellement inactive.

Dans les vrilles, la tension élastique des tissus distendus passivement et celle des parois cellulaires du parenchyme font équilibre à la force de turgescence du parenchyme; mais cela ne change absolument rien à la question de savoir si, dans un cas donné, la force de turgescence est active en totalité ou seulement en partie.

---

1) Vol. I p. 91.

2) La tension élastique des parois cellulaires n'est donc une mesure de la force de turgescence que lorsque le libre accès de l'eau est assuré.

Ces considérations m'ont conduit à tâcher de réaliser les circonstances dont il vient d'être parlé.

J'en ai trouvé le moyen dans les expériences d'injection, bien connues, de Dutrochet. Cet éminent physiologiste nous a appris, en effet, qu'à l'aide de la machine pneumatique on peut extraire de différents organes végétaux la plus grande partie de l'air intercellulaire, et que, si l'objet est maintenu dans l'eau sous la cloche de la machine, on peut, en ouvrant le robinet, faire remplacer cet air par de l'eau. Une faible raréfaction de l'air est ordinairement déjà suffisante pour obtenir le résultat désiré; avec les vrilles aussi, cela est le cas.

La question que j'avais à résoudre était donc celle-ci: *Les mouvements que les vrilles exécutent à la suite d'une irritation sont-ils accélerés quand on injecte de l'eau*?

Avant de pouvoir aborder cette question avec chance de succès, j'avais naturellement à en examiner une autre, à savoir: *qu'elle influence l'injection d'eau a-t-elle sur les vrilles non irritées*? Il serait très concevable, en effet, que dans les vrilles non irritées la force de turgescence des cellules ne fût pas toujours active tout entière, et qu'elle fût par conséquent capable de faire équilibre à une tension élastique des tissus passivement distendus plus forte que la tension existante.

Dans toutes mes expériences, la méthode suivie a été la même. Les vrilles, parvenues au stade que je voulais étudier, recevaient une marque, puis étaient introduites avec précaution dans un verre cylindrique, court et large. Dans cette manœvre, il fallait absolument éviter toute irritation; à cet effet, les vrilles étaient toujours saisies vers le bas avec une petite pince; le haut n'était jamais touché. Pour les maintenir sous l'eau contenue dans le verre et les empêcher de surnager, je plaçais à très peu de distance au-dessous de la surface de l'eau une toile métallique, supportée par quatre ressorts qui pressaient contre l'intérieur du verre et permettaient de la faire monter ou descendre. Les plus grands soins sont nécessaires pour prévenir que le contact avec cette toile métallique n'occasionne une irritation. Heureusement, les vrilles incurvées ne peuvent, grâce à cette courbure, la toucher que par leur face supérieure ou par un de leurs côtés, mais non par leur face irritable. Il faut veiller également à ce qu'aucune irritation ne se produise pendant qu'on fait agir la pompe. Après l'extraction de l'air, les vrilles étaient retirées avec précaution du verre cylindrique et déposées

dans des capsules plates remplies d'eau; pour cela aussi, on ne les saisissait que par l'extrémité inférieure et avec une pince.

En observant toutes ces précautions, il est possible d'éviter complètement que les vrilles ne soient irritées pendant la manipulation; c'est ce que montrent celles des expériences de la première section où l'injection de vrilles droites n'a pas produit la moindre courbure.

La question de savoir si, dans les circonstances données, l'injection avec de l'eau est nuisible à la vie des vrilles, méritait de faire l'objet d'une expérience directe, surtout à cause de l'influence défavorable que l'injection avait exercée, dans quelques cas, entre les mains de Dutrochet. Pour cette expérience, j'ai choisi de jeunes vrilles de *Sicyos angulatus*, présentant encore toutes une courbure hyponastique, mais arrivées à des stades divers de redressement; après les avoir injectées sous la machine pneumatique, l'air étant raréfié au même degré que dans toutes les autres expériences, je les plaçai sous l'eau dans une petite capsule plate, où elles furent abandonnées à elles-mêmes durant 12 jours. Dans ces conditions, elles continuèrent à croître, se redressèrent peu à peu, restèrent droites pendant un temps très court, puis commencèrent à se courber épinastiquement, jusqu'à ce qu'elles fussent enroulées en spires étroites. Elles parcoururent donc les phases ordinaires de la vie, sans accuser aucune influence nuisible, sauf peut-être un certain ralentissement, dû à l'accès d'une moindre quantité d'oxygène. Voici le nombre des spires qu'on pouvait y compter:

	No. 1.	No. 2.	No. 3.	No. 4.	No. 5.
9 août (commencement)	— 3/8	—1 1/4	—2 1/8	—2 1/2	— 3/4
11 „	0	0	0	— 1/2	+ 3/4
12 „	2 1/2	0	0	0	3/4
13 „	7	2 1/2	0	0	1
14 „	7	4	1/2	0	4 1/2
15 „	8 1/2	4 1/2	2	3	5
16 „	8 1/2	4 1/2	3 1/4	5	6
21 „	8 1/2	4 1/2	5	6	6 1/2

Les nos 1 et 2 étaient des vrilles primaires, les nos 3—5 des vrilles latérales. Le signe — indique les spires hyponastiques encore existantes au début; partout ailleurs, le côté supérieur est convexe.

On voit qu'après l'injection, sous l'eau, les vrilles out parcouru de la manière ordinaire les différentes phases de la vie.

Je passe maintenant à la description des expériences.

Série I. Expériences sur les vrilles du *Sicyos angulatus*.

A. MOUVEMENTS ÉPINASTIQUES.

a. Période du redressement.

I. Une jeune vrille primaire, à 3¼ spires hyponastiques, fut injectée avec de l'eau. Au bout de trois quarts d'heure le nombre des spires était réduit à 2¾, un peu plus de trois heures après à 2, encore 14 heures plus tard à ¼.

Immèdiatement après l'injection la diminution avait donc été en trois quarts d'heure de ½ spire, puis en un peu plus de trois heures de ¾ de spire, et en 14 heures seulement de 1 spire ¾. L'injection avait donc eu pour effet une accélération sensible du mouvement.

II. Deux vrilles primaires plus âgées, conservant encore respectivement 1¼ et ⅜ de spire hyponastique, furent injectées. Au bout de cinq quarts d'heure elles n'avaient plus respectivement que ¾ et ⅛ de spire; une heure et demie plus tard ¾ et 0, encore trois heures plus tard ½ et 0.

Donc, immédiatement après l'injection, en cinq quarts d'heure, perte respective de ½ et de ¼; puis, en une heure et demie, de 0 et de ⅛; enfin, en trois heures, de ¼ et de 0. Ici encore, il y avait donc accélération évidente du mouvement à la suite de l'injection.

III. Trois vrilles latérales furent traitées de la même manière:

	Nombre des spires.			
	Avant.	après 1 h¼.	après 2 h¾.	après 6 h.
N°. 1	2⅛	1½	1¼	1⅛
„ 2	2½	2	1⅞	1⅝
„ 3	¾	½	½	½

Cette expérience confirme le résultat des deux précédentes.

Des expériences de contrôle apprirent que des vrilles non injectées, laissées sur la plante, ont ordinairement besoin de 2—3 jours pour redresser les 1—3 dernières spires.

L'action accélérante de l'injection s'était donc peut-être étendue, dans les trois expériences communiquées, sur toute la durée de l'expérience.

Conclusion.

Lors du redressement épinastique, le mouvement est temporairement accéléré par l'injection d'eau.

β. Seconde période. Vrilles droites.

IV. Deux vrilles droites furent injectées: elles restèrent droites pendant un temps considérable.

Quand on répète cette expérience, il arrive parfois que les vrilles soient irritées, en dépit de toutes les précautions prises. Elles se courbent alors au sommet, en général légèrement, mais elles ne tardent pas à se redresser. J'ai observé de pareilles courbures de ¼, ⅝ et ¾ de spire; au bout d'une couple d'heures, les vrilles étaient redevenues droites.

Conclusion.

En l'absence de toute irritation, les vrilles droites restent droites après l'injection.

γ. Période de l'enroulement épinastique.

V. Une vrille d'une plante tenue en chambre avait commencé à s'enrouler épinastiquement et avait fait, dans sa moitié inférieure, 1 spire et ⅛; le sommet, long de plus de 3 cm., était encore droit. A ce moment, elle fut injectée avec précaution. Nombre des spires:

		Accroissement.
Avant l'injection	1⅛	
5 minutes après	1¼	⅛
12 „ „	1½	¼
40 „ „	1½	0
2 heures „	1¾	¼
4 „ „	2½	¾
8 „ „	3½	1.

Le sommet resta droit durant tout ce temps.

Dans les douze premières minutes après l'injection l'accroissement du nombre des spires fut de ⅜, ensuite, par heure, seulement de ⅛—⅜.

L'injection détermina donc temporairement une accélération très considérable du mouvement épinastique. Il semblerait qu'à l'accélération succède d'abord une période de ralentissement, avant que le mouvement reprenne son cours ordinaire.

VI. Des vrilles qui avaient commencé à s'enrouler épinastiquement sur des plantes placées dans la chambre furent coupées avec précaution et injectées.

Nombre des spires:

	No. 1.	No. 2.	No. 3.
Avant l'injection	1¾	2½	7½
10 minutes après	1⅜	3	8½
½ heure ,,	2	3	8½
1½ ,, ,,	2	3	8½.

Les sommets de ces vrilles étaient droits.

L'njection avait donc eu pour résultat d'abord un accroissement rapide des spires, et ensuite, durant quelque temps, un arrêt du mouvement.

Il n'arrive pas toujours que les vrilles éprouvent une accélération du mouvement à la suite de l'injection; quelquefois, celle-ci paraît n'exercer aucune espèce d'influence; c'est ce que j'ai observé sur nombre de vrilles à mouvement très lent, maintenues à une température assez basse (17° C.)

VII. Une très grande vrille, qui s'était développée dans la chambre, avait formé 1½ spires épinastiques, qui comprenaient environ les ⅔ de la vrille; le troisième tiers, au sommet, était encore droit. Cette vrille ayant été injectée, les spires devinrent plus nombreuses et plus étroites; le tiers supérieur resta tout à fait droit. Le nombre des spires était:

		Accroissement.
Avant l'injection	1½	
7 minutes après	2½	1
45 ,, ,,	3	½
4½ heures ,,	4½	1½

On voit que l'accélération du mouvement, produite par l'injection, était très considérable.

VIII. Une vrille qui avait déjà fait 2¾ spires épinastiques, mais dont le sommet était encore droit, fut injectée avec de l'eau. Au bout de ¾ d'heure elle montrait 4¼ spires, au bout de 4 heures 5¼ spires. Ainsi, dans les premiers ¾ d'heure, augmentation de ½ spire, dans les 3¼ heures suivantes augmentation de 1 spire. L'accélération par l'injection était donc évidente.

Conclusion.

Au début de l'enroulement épinastique, l'injection d'eau a pour conséquence une accélération passagère du mouvement.

B. MOUVEMENTS D'IRRITATION.

δ. Mouvement produit par le frottement, etc.

IX. Deux vrilles furent irritées par le frottement à la face inférieure, puis injectées d'eau immédiatement après. Il en résulta un enroulement rapide, le nombre des spires étant:

	No. 1.	No. 2.
au bout de 1 minute	2¼	4
„ „ „ 4 minutes	4¼	5¾
„ „ „ 40 „	5	13.

Le n°. 1 fut alors plasmolysé, opération qui lui fit perdre 2¼ spires; les 2¾ spires restantes étaient plus larges qu'avant la plasmolyse. L'enroulement rapide, par suite de l'injection, avait donc été accompagné d'un allongement permanent.

X. Une vrille très irritable, tout à fait droite, sauf un léger contournement au sommet, fut excitée par le frottement d'une tige métallique, qu'on passa dix fois sur sa face inférieure; la vrille s'enroula très rapidement sous cette action. Quelques minutes plus tard, elle fut injectée d'eau; le nombre des spires varia alors de la manière suivante:

avant l'injection	2¼
3 minutes après	2¾
20 „ „	4¾
60 „ „	5.

Le nombre des spires augmenta donc beaucoup plus fortement que cela n'eût été le cas en l'absence de l'injection. La plasmolyse fit voir que,des cinq spires formées, 2½ provenaient d'un allongement permanent et les 2½ autres de l'extension par turgescence.

XI. Une vrille, coupée avec toutes ses branches latérales, et que des causes accidentelles avaient irritée durant le transport du jardin au laboratoire, fut injectée immédiatement après. La vrille principale avait environ 20 cm. de longueur, les deux plus grandes vrilles latérales mesuraient respectivement 9 et 6 cm. Avant l'injection, elles étaient toutes les trois à peu près droites; aussitôt après l'injection, elles commencèrent à s'enrouler, à partir du sommet, en spires très étroites. Au bout d'un quart d'heure, le haut était entièrement enroulé sur une longueur de 5, 4 et 1 cm.; le reste était encore droit. Voici l'accroissement du nombre des spires.

	No. 1.	No. 2.	No. 3.
Avant l'injection	¼	0	0
8 minutes après	2¾	¾	⅝
10 „ „	4¼	1	—
15 „ „	6½	1¾	⅞
25 „ „	8	2½	—
40 „ „	9¼	—	1
2¼ heures „	12	—	1¼

Le n°. 1 est la vrille principale, les nos 2 et 3 sont les vrilles latérales.

Lorsque la vrille n°. 2 eut atteint 2½ spires, elle fut plasmolysée, ce qui lui fit perdre 2 spires.

Les nos 1 et 3 restèrent dans l'eau; la vrille n°. 3 y perdit, dans l'espace de 20 heures, toutes ses spires et devint droite; la vrille principale en perdit 4 et conserva 8.

Conclusion.

Les courbures provoquées par le frottement augmentent très considérablement à la suite de l'injection.

ε. Enroulement autour de supports.

XII. Des plantes en pots, qui se trouvaient depuis une couple de jours dans le laboratoire, avaient produit, le 9 août, un grand nombre de vrilles droites. Je plaçai derrière celles-ci, à peu de distance de leur sommet, des fils de fer de 2 mm. d'épaisseur, sur lesquels je les laissai s'enrouler. Au bout d'un temps plus ou moins long, les vrilles furent coupées et injectées avec précaution.

Le n°. 1 avait fait, en 10 minutes, 3⅛ spires lâches autour du support. Par l'injection, le nombre de ces spires augmenta comme il suit:

au bout de	8	minutes jusqu'à	4½ sp.
„ „ „	12	„ „	6¼ „
„ „ „	18	„ „	7½ „
„ „ „	35	„ „	10 „
„ „ „	70	„ „	12 „

Ensuite, le mouvement devint rétrograde, et la vrille présenta:

au bout de	2	heures	9 sp.
„ „ „	4	„	6½ „
„ „ „	5	„	6 „

Le n°. 2, en ½ heure, avait fait 1 spire et ¼ autour de son support; la vrille fut alors injectée. Nombre des spires:

au bout de	3	minutes	1¾
„ „ „	18	„	3¼
„ „ „	40	„	3½.

La vrille commença alors à se dérouler, et au bout de trois heures elle était redevenue droite.

Le n°. 3, en ½ heure, avait aussi fait 1 spire et ¼ autour du support; l'injection porta le nombre des spires, en ½ heure, à 3½, après quoi la vrille rétrograda et redevint droite au bout de quatre heures.

La vrille n°. 4 avait fait ½ spire autour du support lorsqu'elle fut injectée. Nombre des spires:

au bout de 20 minutes	7¼
„ „ „ 1½ heures	7¾
„ „ „ 3 „	6
„ „ „ 5 „	4½
„ „ „ 8 „	3

Dans tous ces cas, l'injection avait donc eu pour effet une accélération très considérable du mouvement; celui-ci est d'abord si rapide qu'on peut très facilement le suivre à l'œil, puis il se ralentit graduellement. Au bout de quelques temps il s'arrête, et comme l'irritation a aussi cessé d'agir depuis que l'injection a eu lieu, la vrille se redresse peu à peu, tantôt complètement, tantôt seulement en partie. Cette dernière circonstance dépend naturellement de l'âge de la vrille.

XIII. Des vrilles toutes droites, de plantes en pots dans l'appartement, furent mises le 13 août, à 21° C., en contact pendant trois minutes avec des fils de fer; elles se courbèrent autour des fils et furent alors coupées et immédiatement injectées avec de l'eau. Nombre des spires:

	No. 1.	No. 2.	No. 3.
avant l'injection	1	1	¾
1 minute après	2	2¼	1
20 minutes „	5¾	5½	4
5 quarts d'heure après	6	4¾	3¾
5 heures „	2½	—	—.

Au bout de 5 quarts d'heure, les vrilles n°. 2 et n°. 3 furent plasmolysées, ce qui ne leur fit perdre respectivement que 2¾ et 1½ de leurs spires; celles-ci reposaient donc en partie sur un changement permanent.

La vrille n°. 1, qui resta dans l'eau, continua à s'enrouler et présentait, au bout de 24 heures, 13 spires épinastiques.

L'injection avait donc eu pour résultat un accroissement considérable des courbures. Sans l'injection, une fois le support enlevé, ces courbures n'auraient augmenté que lentement et faiblement, par

l'effet de l'action consécutive. Après un temps plus ou moins long, l'action de l'irritation et celle de l'injection cessent, et les vrilles commencent à se redresser lentement, tout comme elles l'auraient fait en l'absence de l'injection.

XIV. Deux vrilles droites furent prises au jardin, mises pendant 5 minutes en contact, par leur côté postérieur et à une couple de centimètres de distance de leur sommet, avec un mince fil de cuivre, puis injectées immédiatement. Nombre des spires:

	No. 1.	No. 2.
Avant l'injection	¼	⅛
5 minutes après	1	—
8 „ „	2	¾
9 „ „	3	—
10 „ „	3½	⅞
14 „ „	5	—
22 „ „	7	1¼
42 „ „	—	1½.

Au bout de 22 minutes, la vrille n°. 1 fut placée dans une solution concentrée de sel marin, où elle perdit 4 de ses 7 spires. La vrille n°. 2, restée dans l'eau, se déroula en quelques heures jusqu'à ¼ de spire, après quoi elle recommença à s'enrouler épinastiquement.

On voit que l'injection avait augmenté la courbure, et même très fortement dans le n°. 1. En outre, on voit que les courbures sont passagères, en ce sens que la vrille, maintenue dans l'eau, peut de nouveau s'étendre ultérieurement; que néanmoins (témoin le n°. 1) elles s'accompagnent d'un allongement qui persiste après la plasmolyse.

XV. Deux vrilles de plantes d'appartement formèrent autour de gros fils de fer, en une heure environ, respectivement ¾ et 2⅜ spires, qui étaient étroitement appliquées au support. Arrivées à ce point, elles furent injectées. Nombre des spires:

	No. 1.	No. 2.
Avant l'injection	¾	2⅜
¾ d'heure après	3½	3½
4 heures „	¾	2½
20 „ „	7	11.

Ainsi, immédiatement après l'injection, incurvation rapide; ensuite, d'abord diminution, puis de nouveau augmentation du nombre des spires, celle-ci par suite d'épinastie.

XVI. Des vrilles de plantes en pots s'enroulèrent autour de supports et reçurent alors une injection d'eau (13 août). Nombre des spires:

	No. 1.	No. 2.
Avant l'injection	1	3½
½ heure après	3	14.

Toutes les deux furent ensuite plasmolysées dans une forte solution de sel; au bout de 20 heures, le nombre des spires était réduit, dans le n°. 1, à 1 spire, dans le n°. 2, à 7 spires.

L'injection avait donc déterminé une rapide augmentation du nombre des spires; ces spires provenaient en grande partie de l'extension par turgescence, mais, quant au reste, d'un allongement permanent.

XVII. Une vrille droite, prise au jardin et placée dans un verre d'eau, fit, en 1 heure ½ environ, 4½ spires autour d'un fil de cuivre épais de 3 mm. L'injection ayant alors été pratiquée, le nombre des spires s'éleva en 10 minutes à 5½, en 50 minutes à 8½. Par la plasmolyse, la vrille ne perdit que 3½ de ces spires; 5 persistèrent.

Le résultat est le même que dans les autres expériences.

XVIII. En dernier lieu, j'ai injecté de l'eau dans un certain nombre de vrilles qui avaient saisi un support et s'étaient enroulées en spires entre ce support et leur base. Comme elles présentaient des points de rebroussement, j'indiquerai le nombre des spires par plusieurs chiffres successifs; le signe + marque la position des points de rebroussement, le premier chiffre a rapport aux spires situées entre la base et le premier point de rebroussement.

Une jeune vrille fut injectée le 30 août. Nombre des spires avant l'injection: 1½ + 1½ + 1¼; au bout de 20 minutes: 2 + 2 + 1¾; au bout de 4 heures: 2 + 2 + 2.

Une jeune vrille, un peu plus âgée que la précédente, et comptant 5 + 7 spires, fut injectée, le nombre des spires s'éleva en 8 minutes à 5 + 8, et resta alors le même pendant 1 heure ½ (29 août).

L'njection fut pratiquée sur plusieurs vrilles âgées, offrant les nombres de spires suivants:

N°. 1.	6½ + 5½
„ 2.	5 + 6
„ 3.	6 + 6½

N°. 4.	2 + 2
„ 5.	4½ + 3 + 2.

Ni immédiatement après l'injection, ni dans le cours de quelques heures, ces vrilles ne montrèrent de changement quant au nombre de leurs spires.

Cette expérience nous apprend donc que, dans les vrilles jeunes, toutes les spires, depuis le support jusqu'à la base, augmentent légèrement à la suite de l'injection; dans les vrilles un peu plus âgées, l'augmentation ne porte que sur les spires de la partie la plus jeune de la vrille; chez les vrilles âgées, l'injection n'a pas d'influence sensible.

Conclusions.

1. Les courbures que les vrilles forment autour des supports augmentent par l'injection, tantôt plus, tantôt moins, le plus souvent très fortement. Aussitôt après l'injection, les mouvements des vrilles sont d'ordinaire directement perceptibles.

2. L'augmentation en question est temporaire; au bout d'un temps généralement court, les vrilles commencent à se détendre.

3. Les courbures dépendent toujours en partie d'une extension par turgescence, en partie d'un changement qui persiste après la plasmolyse.

4. Les spires formées entre le support et la base de la vrille augmentent par l'injection tant qu'elles sont récentes, mais non lorsqu'elles sont plus anciennes.

ζ. Mouvement rétrograde après l'enlèvement du support.

XIX. Le 14 août, par une température de 20° C., deux vrilles droites, admirablement développées sur des plantes en pots, dans l'appartement, furent mises en contact de la manière ordinaire avec des supports, consistant en fils de fer de 2 mm. d'épaisseur. Au bout de ¼ d'heure, les supports furent enlevés; le mouvement continua encore quelque temps, s'arrêta, puis reprit lentement en sens contraire; au beau milieu du mouvement rétrograde, on coupa les vrilles avec précaution, on les introduisit sous la cloche de la machine pneumatique, et on les injecta. Nombre des spires:

	No. 1.	No. 2.
Au bout de ¼ d'heure	⅞	2
„ „ „ 25 minutes	1½	2½
„ „ „ 45 „	1	2½
„ „ „ 65 „	½	1¼
„ „ „ 1 h. ¼	¼	½.

A ce moment eut lieu l'injection:

8 minutes après	¼	½
15 „ „	¼	½
30 „ „	¼	½
1 h. ½ „	¼	¼.
2 h. ½ „	0	0.

Les vrilles restèrent alors droites, jusqu'an moment où elles commencèrent à s'enrouler épinastiquement.

Conclusion.

L'injection n'avait donc été suivie d'aucune accélération du mouvement; au contraire, elle paraît l'avoir retardé.

C. INJECTION AVEC DES SOLUTIONS SALINES FAIBLES.

XX. Des vrilles droites, prises au jardin, furent injectées, sous la cloche de la machine pneumatique, avec une solution de chlorure de sodium à 5 pour cent. Immédiatement avant l'injection on les avait mesurées, en les appliquant sur une règle divisée; il en était résulté une irritation, par suite de laquelle elles avaient formé au sommet des spires étroites, qui s'effacèrent en partie après que l'irritation eut cessé d'agir. Nombre des spires:

	au bout de ½ h.	au bout de 70 minutes.	au bout de 1 h. ½.
N°. 1.	¼	⅛	⅛
„ 2.	2¼	1¾	½
„ 3.	2½	1	½
„ 4.	¼	0	0
„ 5.	1¼	¼	¼.

Plus tard, en 20 heures environ, les nos 2 et 3 s'enroulèrent encore une fois, respectivement jusqu'à 2½ et 2 spires.

XXI. Même sans l'injection à l'aide de la machine pneumatique, les vrilles qui ont été irritées par l'une ou l'autre cause présentent le phénomène de l'enroulement au sommet dans les solutions salines faibles. C'est ainsi que des vrilles droites formèrent:

Dans une solution à 4%, en quelques jours, 4½ et 3½ spires au sommet.

Dans une solution à 5%, en trois heures, 3 et 2 spires au sommet; le premier exemplaire, porté ensuite dans une solution à 20%, n'y perdit que 1½ de ses 3 spires.

Dans une solution à 7—8 %, le côté supérieur devient au contraire concave, de même que dans une solution à 20%.

XXII. Trois vrilles, coupées au jardin, furent mises pendant peu de temps, à la température de 31° C., en contact avec un support; et une autre vrille (n°. 2), provenant d'une plante en pot, fut traitée de la même manière à 22° C. Après qu'elles eurent formé quelques spires autour du support, deux d'entre elles (nos 1 et 2) furent injectées sous la machine pneumatique avec une solution de chlorure de sodium à 1%, les deux autres (nos 3 et 4) avec une solution à 2%. Voici le nombre de spires des vrilles qui reçurent l'injection de chlorure de sodium à 1%:

	No. 1.	No. 2.
Avant l'injection	1	2
4 minutes après	1½	3¼
6 „ „	1¾	3½
17 „ „	2	3½
40 „ „	2¾	3½
1 heure ¾ „	2¾	2¼
4 heures ½ „	1½	7¼
24 „ „	6	11.

Le contact avec le support avait duré 10 minutes.

Dans le cas des nos 3 et 4, — injection de chlorure de sodium à 2%, — le contact avec le support fut maintenu pendant 25 minutes. Nombre des spires:

	No. 3.	No. 4.
Avant l'injection	1¾	1⅝
2 minutes après	2¾	3½
25 „ „	4	4½
1 heure ½ „	4	3¼
4 „ ½ „	8¼	6
24 „ „	14	11.

Les vrilles étaient restées fraîches et fermes dans les deux solutions. Cette expérience montre que l'injection d'une solution de sel marin à 1 et 2 pour cent accélère notablement l'incurvation autour d'un support, tout comme le fait l'injection d'eau pure. Les phénomènes ultérieurs sont aussi les mêmes que lors de l'injection avec l'eau: d'abord diminution des spires, puis de nouveau enroulement épinastique des vrilles.

L'action accélératrice des solutions salines est toutefois moindre que celle de l'eau

Qu'il me soit permis de dire que des vrilles droites, placées dans une solution à 1 pour cent, ne changent pas d'abord de longueur,

tandis que dans une solution à 2 pour cent elles se raccourcissent. Au bout de quelques temps, elles s'allongent dans les deux cas, par l'effet de l'accroissement.

XXIII. Deux vrilles, prises au jardin et placées dans de petits verres contenant de l'eau, furent mises, à la température de 31° C., en contact avec un support, autour duquel elles firent, en un quart d'heure, ¼ et ⅜ de spire. Elles furent alors injectées d'une solution de chlorure de sodium à 4 pour cent. Nombre des spires:

	No. 1.	No. 2.
Avant l'injection	¼	⅜
5 minutes après	¾	1⅞
1 heure „	¾	1¾
4 heures „	⅜	0
20 „ „	¼	¾

L'injection avait donc eu pour conséquence une accélération du mouvement; à celle-ci succéda un mouvement rétrograde, et plus tard, chez le n°. 2, de nouveau un commencement d'enroulement épinastique.

XXIV. Quatre vrilles droites, provenant du jardin et placées dans de petits verres cylindriques pleins d'eau, furent mises à 31° en contact avec un support; elles s'enroulèrent autour de celui-ci en ½—1 heure, après quoi elles reçurent sous la machine pneumatique une injection d'une solution de chlorure de sodium à 5 pour cent. Nombre des spires:

	No. 1.	No. 2.
Avant l'injection	1	1⅝
5 minutes après	½	1¾
1 heure „	¼	1⅛
3—4 heures „	0	1

	No. 3.	No. 4.
Avant l'injection	⅜	3¼
3 minutes après	—	4¼
10 „ „	⅛	3¾
2 heures ½ „	⅛	3
20 „ „	⅛	½

A la fin de l'expérience, les vrilles nos 1 et 3 étaient assez molles, le n°. 4 assez ferme.

Le résultat fut que chez les nos 1 et 3 la solution saline diminua l'enroulement d'emblée et d'une manière permanente, tout comme

l'eût fait une solution beaucoup plus concentrée, tandis que les vrilles 2 et 4 se comportèrent comme si elles avaient été injectées d'une solution plus faible; peut-être cette différence doit-elle être attribuée à ce que les vrilles n°. 2 et 4, sous l'influence du support, s'étaient déjà courbées plus fortement que les nos 1 et 3.

Conclusions.

1. Dans les solutions de sel marin à 4—5 pour cent, les vrilles s'enroulent au sommet.
2. L'injection de solutions de sel à 1—2 pour cent accélère le mouvement autour d'un support, de la même manière que le fait l'injection d'eau.
3. Les solutions salines à 4 pour cent, et parfois celles à 5 pour cent, agissent d'une manière analogue, mais beaucoup moins fortement; dans la plupart des cas, la solution à 5 pour cent se comporte comme les solutions salines concentrées, c'est-à-dire qu'elle abolit la turgescence.

Ces faits gagnent en intérêt lorsqu'on considère que des vrilles non irritées, dans une solution saline à 2—4 pour cent, perdent une partie de leur turgescence et se raccourcissent, tandis qu'à 4—5 pour cent, chez de pareilles vrilles, la plasmolyse commence déjà dans les cellules du parenchyme.

Série II. Expériences sur les vrilles du *Cucurbita Pepo*.

1. *Injection lors de l'extension épinastique.*

Deux jeunes vrilles, encore enroulées de manière à avoir le côté supérieur concave, furent coupées au jardin et injectées d'eau sous la machine pneumatique. Nombre des spires:

	No. 1.	No. 2.
Avant l'injection	2½	1½
1 heure ¾ après	2	1
3 heures ½ „	1¾	1
7 „ „	—	1
24 „ „	1	0

L'injection d'eau avait donc eu pour résultat une accélération temporaire du mouvement.

2. *Injection lors de l'enroulement autour d'un support.*

Deux vrilles, qui, au jardin, venaient seulement de commencer à se courber autour d'un support, furent coupées et injectées sous la machine pneumatique. Nombre des spires:

	No. 1.	No. 2.
Avant l'injection	¼	⅛
1 heure ¾ après	¾	1
3 heures ½ „	¼	⅛
7 „ „	0	0

Si l'on considère qu'après l'enlèvement du support il n'y a toujours qu'une action consécutive faible, on voit que l'injection d'eau, dans les deux cas, a notablement augmenté la courbure. Après que l'influence de l'injection eut cessé, les vrilles redevinrent droites.

3. *Injection lors de l'enroulement autour d'un support.*

Trois vrilles, qui avaient fait au jardin un certain nombre de spires autour de supports, furent injectées. Nombre des spires:

	No. 1.	No. 2.	No. 3.
Avant l'injection	4	1⅝	2¼
1 heure ¾ après	7½	3	7½
3 heures ½ „	8¾	3	7½
7 „ „	8½	2⅝	—
20 „ „	6½	1	—

Après l'injection, les spires devinrent plus nombreuses et plus étroites, mais elles ne s'étendirent pas sur une plus grande partie de la vrille; le sommet et la base restèrent droits. La vrille n°. 3 fut plasmolysée au bout de 3½ heures et ne perdit par cette opération que 1½ de ses spires.

Dans ces trois exemplaires, l'accroissement de la courbure, à la suite de l'injection, fut très considérable.

Conclusions.

Dans le *Cucurbita Pepo*:

1° la force de turgescence, lors de l'extension épinastique, n'est pas complètement saturée.

2°. l'irritation produit temporairement une augmentation très considérable de la force de turgescence du côté supérieur de la vrille.

Série III. Expériences sur les vrilles de *l'Echinocystis lobata.*

1. *Injection lors de l'enroulement épinastique.*

Une vrille s'était enroulée, le côté surpérieur devenant convexe, en larges spires sur toute sa longueur. Nombre des spires:

Avant l'injection	3¼
45 minutes après	4¾
1 heure „	5¾

L'injection avait donc eu pour effet temporaire une accélération considérable du mouvement.

2. *Injection d'une vrille courbée au sommet.*

Une vrille s'était, par suite du contact accidentel avec d'autres objets, courbée au sommet, de manière à y faire ¾ de spire. Injectée d'eau, elle changea sa courbure de la manière suivante:

Avant l'injection	¾
20 minutes après	1¼
1 heure „	1¼
2 heures „	¼
4 „ „	0.

Le mouvement avait donc éprouvé d'abord un accroissement rapide, puis la vrille était redevenue tout à fait droite.

3. *Injection lors de l'enroulement autour d'un support.*

Une vrille d'une plante en pot avait fait, dans l'espace d'environ six heures, plusieurs spires très lâches autour d'un support; le sommet était encore entièrement droit. L'injection eut alors lieu. Nombre des spires:

Avant l'injection	2⅞
6 minutes après	4¼
2 heures „	4¼
5 „ „	8¼
20 „ „	24.

L'injection avait donc eu pour conséquence d'abord une accélération très considérable du mouvement, ensuite une période de ralentissement. A la fin, l'enroulement épinastique se combina avec les spires déjà existantes.

Conclusion.

Les vrilles de l'*Echinocystis lobata*, qui dans le bourgeon ne sont pas enroulées hyponastiquement, se comportent, lors de l'enroulement épinastique et des mouvements d'irritation, exactement comme les vrilles du *Sicyos angulatus*, quant aux points examinés.

Conclusions générales.

Essayons maintenant de formuler les résultats empiriques généraux qui se déduisent de toutes les expériences ci-dessus décrites.

1°. *Tous les mouvements des vrilles sont passagèrement renforcés par l'injection d'eau;* seul le mouvement rétrograde, qui s'opère après l'enlèvement du support, fait exception à cette règle, dans le stade étudié.

2. Les vrilles droites, non irritées, restent droites après qu'on les a injectées d'eau.

3. L'accélération est beaucoup plus considérable pour les mouvements irritatoires que pour les mouvements épinastiques; les vrilles atteignent, après une irritation de courte durée, un beaucoup plus fort degré de courbure que cela ne leur eût été possible, dans les conditions données, en l'absence de l'injection.

Conformément aux considérations présentées au début de ce Mémoire, nous pouvons regarder comme démontré:

4°. Que la force de turgescence du parenchyme des vrilles, lors du redressement épinastique, et plus tard lors de l'enroulement épinastique, est en partie inactive.

5. Que les irritations provoquent tout à coup un accroissement très considérable de la force de turgescence, beaucoup plus considérable que ne l'indiqueraient les mouvements qui s'effectuent dans les circonstances ordinaires.

(*Archives Néerlandaises des Sciences exactes et Naturelles. T. XV, 1880, p. 269*).

UEBER DIE KONTRAKTION DER WURZELN.

Es ist eine sehr verbreitete Erscheinung, dass der Wurzelhals krautiger Pflanzen im Boden versteckt liegt. Man kann sich von dieser Thatsache leicht, sowohl bei wildwachsenden als bei kultivirten Arten überzeugen, am bequemsten aber bei solchen perennirenden Gewächsen, welche nur eine Rosette von Wurzelblättern, und keinen oberirdischen Stengel tragen. Auch zweijährige Pflanzen eignen sich gut für diese Beobachtung. Denkt man über die Ursache dieser Erscheinung nach, so leuchtet bald ein, dass ohne besondere Vorrichtungen in den Wurzeln die Lage des Wurzelhalses eine viel höhere sein müsste. Denn die Keimpflanzen breiten ihre Cotylen über der Erde aus, und die Plumula ragt also mehr oder weniger aus dem Boden hervor. Die Ansatzstellen der Cotylen und der aus der Knospe hervorgetriebenen Blätter liegen aber später im Boden versteckt, sie müssen also nachträglich in den Boden hineingeschoben sein. Da nun auf den Aeckern der Boden sich während des Sommers ganz bedeutend setzt, so würde der Wurzelhals immer mehr aus dem Boden hervortreten müssen, statt sich in diesen zu verstecken, wie solches auch wirklich bei einigen Pflanzen, z. B. den sogenannten aus der Erde wachsenden Rüben, der Fall ist. Bei der grossen Mehrzahl der Pflanzen aber findet dieses nicht statt, hier muss also der Wurzelhals in irgend einer Weise in den Boden hineingezogen werden.

Dieses kann nun offenbar nur durch eine Verkürzung der Wurzeln verursacht werden, wie bereits von Fittmann,[1]) der zuerst auf diese Erscheinung aufmerksam machte, hervorgehoben wurde.

Es ist selbstverständlich, dass diese Verkürzung der Wurzeln für die Pflanzen von grossem biologischen Vortheil ist. Denn in mannigfacher Hinsicht bietet der Boden den in ihnen versteckten Knospen einen Schutz, sowohl im Sommer als zumal im Winter, wo die Bedeckung die Gefahr des Erfrierens in wirksamer Weise verringern muss. Dadurch erklärt es sich, dass die Erscheinung im Pflanzenreich so ganz allgemein vorkommt. Den besten Schutz bedürfen wohl jene Pflanzen, welche, wie die Iris-Arten, mit einem kriechenden, fleischigen Rhizom im Boden befestigt sind. Daher

---

1) Flora 1819, Bd. II. S. 651.

auch bei solchen Arten die Verkürzung der Wurzeln ganz allgemein vorkommt, wodurch einem Hervorragen des Wurzelstockes aus dem Boden vorgebeugt wird.

Einer weiteren, mit den beschriebenen eng zusammenhängenden Erscheinung begegnen wir bei dem Studium der Verbreitung der Wurzeln und ihrer Zweige im Boden. Es ist durch Sachs' schöne Untersuchungen 1) über das Wachsthum der Wurzeln bekannt, dass die äusserste Spitze der Wurzeln durch eine hinter ihr liegende wachsende Zone zwischen die Bodenpartikelchen mit grosser Kraft hineingeschoben wird. Die Spitze folgt dabei den Unebenheiten der Bodenpartikelchen, indem sie jedesmal in die weitesten und am wenigsten Widerstand leistenden Lücken gedrängt wird. Unter solchen Umständen müsste nun selbstverständlich der Verlauf zumal der Seitenwurzeln ein sehr geschlängelter sein, und die Wurzeln selbst müssten lose zwischen den Bodentheilchen liegen. Die Beobachtung lehrt aber, dass dem nicht so ist. Die Nebenwurzeln sind eben so gut wie die Hauptwurzeln auf längeren Strecken fast grade und dabei meist straff gespannt. Dieses kann offenbar nur daher rühren, dass sie sich, nachdem sie ausgewachsen sind, und ihre Lage also der Hauptsache nach eingenommen haben, nachträglich so stark verkürzen, als es die Befestigung an den Bodentheilchen, und der Widerstand dieser erlaubt.

Aus den mitgetheilten Beobachtungen geht hervor, dass sehr allgemein die ausgewachsenen Theile der Wurzeln das Vermögen besitzen müssen, sich mit bedeutender Kraft zu verkürzen. Dass eine solche Verkürzung nun wirklich stattfindet, habe ich in meinem II. und VII. Beitrage zur speziellen Physiologie landwirthschaftlicher Kulturpflanzen für den Klee und die Rübe durch direkte Messungen bewiesen. 2) Es wurden an jungen Pflanzen je zwei Marken in bestimmter Entfernung auf die Hauptwurzel aufgetragen, und dann die Pflanzen theils in Erde, theils als Wasserkultur während einiger Wochen weiter kultivirt. Nach Ablauf dieser Frist wurde die Entfernung der Marken wiederum gemessen, und es zeigte sich ausnahmslos eine grössere oder geringere Verkürzung. Diese Verkürzung betrug bei der Rübe in 2—3 Wochen bis 10 pCt., beim Klee dauerte der Versuch 1½ Monate, und wurde eine Verkürzung von 10—15 pCt., bisweilen sogar von 20—25 pCt. beobachtet.

1) Arbeiten des Bot. Instituts in Würzburg Bd. I. S. 385.

2) Landw. Jahrbücher, Jahrg. VI, 1877, S. 927—930 und Jahrg. VIII, 1879, S. 474—475. An ersterer Stelle ist auch die Literatur über diesen Gegenstand aufgeführt worden.

Nachdem nun also die Verkürzung thatsächlich nachgewiesen, und ihre Bedeutung für die Oekomie der Pflanzen erkannt worden war, schien es mir von Interesse die Ursache dieser Erscheinung kennen zu lernen. Es war zu erforschen in welchen Zellen und Gewebspartien der eigentliche Sitz der aktiven Kontraktion zu suchen sei, und in welcher Weise die Verkürzung bewirkt werde. Es fragte sich, ob diese Kontraktion auf derselben Ursache beruhe, wie die übrigen Kontraktionserscheinungen im Pflanzenreich, oder ob sie vielleicht eine grössere Uebereinstimmung mit der Zusammenziehung thierischer Organe, wie der Muskeln zeige? Endlich, da die Verkürzung eine bleibende, und eine im Laufe der Zeit sich häufende ist, dürfte eine Beziehung zwischen ihr und dem Wachsthum junger Organe als wahrscheinlich vermuthet werden; welcher Art diese Beziehung aber sein würde, konnte erst durch eine genauere Kenntniss der Erscheinung der Wurzelkontraktion ermittelt werden.

Um auf diese und ähnliche Fragen eine Antwort geben zu können, habe ich die Wurzelkontraktion näher untersucht, und die Thatsachen, welche ich dabei aufgefunden habe, sollen in den folgenden Abschnitten beschrieben werden. Am Schlusse werde ich es dann versuchen, aus diesen Thatsachen eine Antwort auf obige Fragen abzuleiten.

I. Beobachtungen an frischen Wurzeln.

§ 1. *Die Querrunzeln der Rinde.*

Irmisch 1) beobachtete, dass die Rinde älterer Wurzeln von *Pinellia* und *Lilium Martagon* deutliche Querrunzeln zeige, und dass man diese Runzeln nach dem Durchschneiden des Holzkörpers durch Ausziehung der Rinde zum Verschwinden bringen könne. Er folgerte daraus, dass jene Runzeln eine Folge der Verkürzung der Wurzeln seien. Solche Querrunzeln sind nun sehr allgemein verbreitet. Unter den Monocotylen beobachtete ich sie häufig und in der schönsten Weise an den Nebenwurzeln der Rhizome von Iris-Arten, z. B. bei *Iris pallida*. Eben so schön und konstant bei den aus den Zwiebeln der Hyacinthe hervorbrechenden Wurzeln, zumal wenn diese auf Wasser kultivirt werden. Ferner bei der Tazette *(Narcissus)* und der gewöhnlichen Zwiebel *(Allium Cepa)*. Es ist, soweit ich gesehen habe, immer nur der obere, einige Centimeter lange Theil der

1) Th. Irmisch, Beiträge zur vergleichenden Morphologie der Pflanzen, 5. Abth. Ueber einige Aroideen. Ahd. d. Naturf. Ges. zu Halle XIII. 2. 1872. S. 11.

Wurzeln, an dem die Oberfläche runzlig erscheint, die jüngeren Theile sind glatt.

In den letzten Tagen des Juli liess ich eine Anzahl von Zwiebelgewächsen ausgraben, um die Wurzeln auf Querrunzeln zu untersuchen. Es waren meist verblühte, theils sogar schon fruchtreife Exemplare. Ich beobachtete die Runzeln bei *Lilium Martagon*, *Gladiolus communis*, *Narcissus poeticus*, *Allium Moly*, bei diesen Arten waren sie sehr schön entwickelt. Schwächer aber doch deutlich bei den meisten anderen untersuchten Arten, z. B. bei *Allium magicum* und *Muscari comosum*.

Unter den Dicotylen zeigen die zweijährigen Gewächse im Allgemeinen wohl die schönsten Runzeln des Wurzelkörpers. Ich beobachtete sie während des ersten Vegetationssommers bereits im Juli an *Carum carvi* und *Conium maculatum*, wo sie auf eine kurze Strecke in der Nähe des Wurzelhalses beschränkt waren. Im September sah ich sie an einjährigen Pflanzen von *Trifolium pratense*, *Anthyllis vulneraria*, *Carum Carvi*, *Cephalaria leucantha*, *Althaea rosea* und *Dipsacus Fullonum*. Endlich im Sommer des zweiten Vegetationsjahres in sehr schöner Weise bei *Rumex ocetosa*, *Heracleum pubescens*, *Pastinaca sativa*, der wilden Form der *Daucus Carota*, und bei älteren Pflanzen von *Eryngium maritimum*.

In allen diesen Fällen war die obere Strecke in einer Länge von meist 2—3 *cm* am stärksten runzlig, dann nahmen die Runzelungen rasch nach unten an Zahl und Stärke ab, und in einer Entfernung von 10 *cm* oder wenig mehr war die Oberfläche meist nahezu ganz glatt.

Diese Beobachtungen lehren uns, dass die äusserte Rindenschicht sich bei der Kontraktion passiv verhält, wie das von einer Korkschicht auch nicht anders zu erwarten war.

Obgleich die Runzeln eine sehr natürliche Folge der Wurzelkontraktion sind, so scheinen sie doch keineswegs eine nothwendige Folge zu sein, wenigstens habe ich sie in vielen Fällen nicht auffinden können. Die Ausdehnung in querer Richtung durch das Dickenwachsthum der Wurzeln mag wohl dazu beitragen, die Runzeln zu verwischen, denn dickere Wurzeln (wie z. B. Rüben) zeigen sie im Allgemeinen weniger wie dünnere.

§ 2. *Der geschlängelte Verlauf der Holzgefässe.*

Schneidet man den dickeren Theil kräftiger Wurzeln der Länge nach in zwei nahezu gleiche Hälften, so beobachtet man nicht selten schon mit dem unbewaffneten Auge, oder doch mit der Loupe, dass

die Holzgefässe des centralen Theiles keineswegs gradlinig verlaufen, sondern mehr oder weniger wellenartig geschlängelt sind. Entspringen die Nebenwurzeln an der Hauptwurzel in zwei Reihen, so liegen die Ausbiegungen wesentlich nur in der Insertionsebene dieser Nebenwurzeln, und man muss den Schnitt also in dieser Ebene führen, um den Verlauf deutlich zu erkennen. Man sieht dann auf genau axilen Schnitten, wie die ältesten, centralen Gefässe häufig sehr stark hin- und hergebogen sind, bisweilen in wenigen grösseren, bisweilen in zahlreicheren kleineren Bögen. Den ersteren Fall bildet unsere Fig. 1 *A* in zweimaliger Vergrösserung für den

Fig. 1.

Längsschnitte durch den oberen Theil der Hauptwurzel junger Pflanzen. *A Dipsacus Fullonum. B Cynara Scolymus. c* Cambium. *g* Holzgefässe; die inneren zeigen einen stark geschlängelten Verlauf.

oberen Theil der Hauptwurzel einer im Juli des ersten Sommers untersuchten Pflanze von *Dipsacus Fullonum* ab; die Fig. *B* stellt den zweiten Fall für eine gleichaltrige Pflanze von *Cynara Scolymus* dar.

In Fig. 1 *A* erkennt man auch die Runzeln der Rinde im Durchschnitt, in der Wurzel, welcher die Fig. 1 *B* entnommen ist, war die Rinde glatt.

Die beiden Figuren zeigen ohne weiteres, dass die inneren ältesten Gefässe am stärksten gebogen sind, und die übrigen desto weniger, je mehr nach aussen sie liegen, je jünger sie also sind. Die allerjüngsten sind nahezu grade. Ich brauche wohl nicht darauf hinzuweisen, dass wegen der stetig fortdauernden Verkürzung selbstverständlich die Gefässe um so mehr gebogen sein müssen, je älter sie sind.

Bei *Dipsacus Fullonum* und *Cynara Scolymus* beobachtete ich diese Erscheinung häufig und meist in starker Ausprägung; ebenso bei einjährigen Pflanzen von *Verbascum Thapsus*. Bei *Beta vulgaris*

saccharifera, Calendula officinalis, Papaver somniferum u. A. sah ich die Erscheinung gleichfalls, aber die Biegungen waren viel schwächer.

Diese Beobachtungen lehren, dass die Holzgefässe sich bei der Kontraktion passiv verhalten, und vom kontraktilen Gewebe zusammengedrück werden.

Eine Bestätigung dieser Folgerung liefern die Zuckerrüben, deren Wurzeln fast gar keine Holzgefässe entwickeln[1]) und dennoch zu denjenigen gehören, welche sich am stärksten kontrahiren.

Es muss also das Wurzelparenchym der Sitz der Kontraktion sein, eine Folgerung, welche sich im nächsten Abschnitt direkt wird beweisen lassen. Ich hebe sie hier hervor, um darauf aufmerksam zu machen, dass hierdurch der längst bekannte aber nie erklärte Unterschied im anatomischen Bau des Holzes der Wurzeln krautiger Pflanzen, von dem Baue des Stengelholzes derselben Pflanzen eine biologische Erklärung findet. Denn wenn das Parenchym der Sitz der Kontraktion ist, und diese Kontraktion nur den Wurzeln und nicht dem Stengel eigen ist, so ist es selbstverständlich, dass in jener das Parenchym in viel höherem Maasse entwickelt sein wird als in dieser. Ebenso ist es erklärlich, dass in der Wurzel alle diejenigen Elemente, welche sich nicht bei der Kontraktion betheiligen können, wohl aber dieser grosse Widerstände entgegensetzen würden, so spärlich wie nur möglich ausgebildet sind. Es gilt dies vor Allem von den inhaltslosen Elementen mit verdickter oder sonst erhärteter Zellwand, also von den Holzgefässen, den Holz- und Bastfasern und der Korkrinde.

Ich darf diese Betrachtungen nicht schliessen, ohne darauf hinzuweisen, dass sie sich nur auf jüngere Wurzeln beziehen; den mehrjährigen Wurzeln, zumal denen der Holzgewächse, fehlt wohl immer das Vermögen der Kontraktion, und damit auch die erwähnte Eigenthümlichkeit im anatomischen Bau.

§ 3. *Die Gewebespannung in den Wurzeln.*

Wenn einzelne Gewebespartien sich activ kontrahiren, andere dabei passiv zusammengedrückt werden, so müssen selbstverständlich Spannungen im Gewebe entstehen. Diese Spannungen werden sich ausgleichen, wenn die einzelnen Gewebetheile von einander isolirt werden, und zu Verlängerungen und Verkürzungen der ein-

---

1) de Vries, Wachsthumsgeschichte der Zuckerrübe; Landw. Jahrbücher Jahrg. VIII, 1879. S. 459 u. ff.

zelnen Theile oder bei weniger vollständiger Trennung zu Krümmungen Veranlassung geben.

Nach dem in § 1 und 2 Mitgetheilten darf man also bei der Isolirung der einzelnen Gewebepartien der Wurzeln solche Grössenveränderungen erwarten.

Es würde aber voreilig sein, die etwa beobachteten Grössenveränderungen ausschliesslich als Folgen der Spannungen zwischen Korkrinde und Holzgefässen einerseits und dem Parenchym andererseits betrachten zu wollen. Denn es ist selbstverständlich, dass auch in dem kontraktilen Parenchym selbst verschiedene Ursachen thätig sein können, welche solche Spannungen herbeiführen, oder ihre Intensität ändern können.

Es ist aber wichtig, die Spannungserscheinungen empirisch kennen zu lernen. Dabei ist vor Allem erforderlich, die Wurzeln und ihre Gewebetheile sowohl vor Aufnahme von Wasser, als auch vor Verlust von Wasser durch Verdunstung oder andere Ursachen möglichst zu schützen, da diese beiden Ursachen selbstverständlich selbst Grössenveränderungen verursachen könnten, welche die aus dem Aufheben der Spannung resultirenden verdecken und mehr oder weniger unkenntlich machen könnten. Um diesen Zweck zu erreichen, muss man die isolirten Theile sofort nach der Isolirung, in Luft liegend, untersuchen.

Wir betrachten zunächst die Spannungen in axiler und nachher die in querer Richtung.

Trennt man die Rinde vom Holzkörper von mehrere Millimeter dicken Wurzeln einjähriger Pflanzen, so haben die beiden vorher gleich langen Theile ungleiche Länge; der Holzkörper ist jetzt kürzer als die Rinde. Der Unterschied ist allerdings nur gering, er betrug bei einem Anfangs 70 *mm* langen Wurzelstück von *Cynara Scolymus* 1 *mm*.

Auch im Holzkörper selbst sind die einzelnen Theile gegen einander gespannt. Ich isolirte, nachdem ich den Holzkörper aus einer kräftigen diesjährigen Hauptwurzel von *Cynara Scolymus* entrindet hatte, den centralen Theil von der Peripherie. Dazu wurde erst durch zwei parallele Schnitte eine axile Lamelle herausgeschnitten, und dann diese wieder durch zwei parallele Schnitte in drei Theile getrennt. Es entstanden so vier peripherische Streifen und ein centraler Theil. Die Länge des Ganzen war Anfangs nach der Entrindung 70,0 *mm*. Nach der Trennung war die mittlere Länge der vier peripherischen Theile 69,3 *mm*, die Länge des Centrums 72,0 *mm*. Es hatten sich also die ersteren um 0,7 *mm* verkürzt, der letztere um 2 *mm* verlängert.

In derselben Weise wurde der Holzkörper einer zweiten Hauptwurzel von *Cynara Scolymus* behandelt.

Länge des Ganzen	46,3	*mm.*
Mittlere Länge der peripherischen Theile . .	45,9	„
Länge des isolirten Centrums	48,0	„
Verkürzung der Peripherie	0,4	„
Verlängerung des Centrums	1,7	„

Man sieht hieraus, dass die centralen Theile im Verbande zusammengedrückt, die peripherischen Theile aber ausgedehnt sind. Dieses entspricht dem anatomischen Befunde, welcher lehrt, dass das Centrum weitaus reicher an Holzgefässen ist, als die Peripherie, wozu noch kommt, dass die Gefässe im Centrum selbstverständlich älter, und also mehr zusammengedrückt sind.

Die relativen Längenänderungen lassen sich in sehr schöner Weise an axilen Lamellen erkennen. Isolirt man einen etwa ½ *mm* dicken, die Achse der Wurzel in sich aufnehmenden Längsschnitt mittelst des Rasirmessers, nachdem man vorher durch zwei scharfe Querschnitte ein etwa 1 *cm* langes Stück herausgeschnitten hat, so sieht man, dass der obere und untere Rand des so isolirten Schnittes keineswegs mehr grade, sondern in eigenthümlicher Weise gekrümmt sind. Figur 2 A bildet diese Krümmung für eine solche Lamelle aus einer Wurzel von *Dipsacus Fullonum* ab. Man sieht,

Fig. 2.

A B

r c h c r   r c h c r

Längsschnitt aus einer Hauptwurzel einer diesjährigen Pflanze von *Dipsacus Fullonum*. *c* Cambium; *h* Holz; *r* Rinde. Die obere und untere Kante waren vor der Isolirung grade. *A* frisch, *B* nach 15 Minuten in Wasser. (Vergl. für B, § 7 S. 55.)

dass in der Höhe des Cambiums die Krümmungen beiderseits gegen die Mitte convex, im Holze aber gegen die Mitte concav sind. Mit anderen Worten, es hat sich das Cambium und das benachbarte Gewebe verkürzt, während die Rinde und das Holz sich ausgedehnt haben.

Aus diesen Messungen folgt, dass, wenn man eine ganze Wurzel oder auch nur einen entrindeten Holzkörper durch zwei axile Kreuzschnitte in je vier Streifen spaltet, diese Streifen sich krümmen. Und zwar muss die Krümmung in beiden Fällen eine entgegengesetzte sein.

Ich spaltete eine etwa 6 *mm* dicke Hauptwurzel einer diesjährigen Pflanze von *Carum Carvi* in der angegebenen Weise in vier Theile, sie krümmten sich mit der Innenseite concav.

Aus einer kräftigen Wurzel von *Dipsacus Fullonum* wurde der Holzkörper in einer Länge von etwa 2 *cm* isolirt und in vier Theile gespalten; die Theile blieben an einem Ende mit einander in Verbindung. Sie bogen sich nach aussen concav und entfernten dadurch ihre freien Enden um etwa 6 *mm* von einander. Denselben Versuch stellte ich mit demselben Erfolge an einer Wurzel von *Cynara Scolymus* an.

Die beschriebenen Krümmungen bei der Isolirung von Gewebestreifen sind am deutlichsten, wenn man axile Längsschnitte durch drei Schnitte derart in vier Theile trennt, dass der eine Schnitt die Lamelle in zwei gleiche Hälften spaltet, die beiden anderen aber durch des Cambium geführt werden. Fig. 3 *A* stellt diese Erschei-

Fig. 3.

A B

r c h c r r c h c r

Längsschnitt aus einer Hauptwurzel einer diesjährigen Pflanze von *Dipsacus Fullonum* in der Achse und im Cambium der Länge nach durchschnitten, *c*, *r* und *h* wie in Fig. 2. *A* frisch, *B* nach 15 Minuten in Wasser. (Vergl. für *B* § 7 S. 56.)

nung dar, wie ich sie an einer axilen Lamelle einer kräftig sich verkürzenden Wurzel von *Dipsacus Fullonum* beobachtete. Die beiden Rindenstreifen sind mit der Rinde convex und mit dem cambialen Gewebe concav gekrümmt; in den beiden Holzstreifen nimmt ebenfalls das jugendliche Gewebe die concave Seite ein, während das ältere gefässreichere centrale Holz die convexe Seite darstellt.

Das Gesammtresultat aus allen diesen Beobachtungen ist:

1. Die jüngsten, cambialen Gewebepartien verkürzen sich bei der Isolirung am kräftigsten.
2. Die äusserste Rinde und das centrale Holz verlängern sich bei der Isolirung am meisten.

3. In den zwischenliegenden Geweben geht die Verkürzung ganz allmälig in die Verlängerung über.
4. In den lebenden Wurzeln sind also die jüngsten aus dem Cambium hervorgegangenen Theile passiv gedehnt, die ältesten (centrales Holz und äussere Rinde) passiv zusammengedrückt.

Betrachten wir jetzt die Erscheinungen der Gewebespannung in der queren Richtung. Die Figuren 4 *A* bis *D* stellen die wichtigsten Fälle bildlich dar, wie ich sie an einer sehr kräftigen Hauptwurzel einer diesjährigen, mehrblättrigen Pflanze von *Dipsacus Fullonum* in den regnerischen Tagen des Juli 1879 beobachtete. Die ½—1 *mm* dicken Scheiben wurden sofort auf Glasplatten gelegt, zerschnitten und ohne Benetzung sofort bei schwacher Vergrösserung gezeichnet. Die graden Schnitte wurden mit dem Rasir-

Fig. 4.

A—D Querscheiben aus einer diesjährigen Hauptwurzel von *Dipsacus Fullonum*, in verschiedener Weise in einzelne Theile gespalten. Auf Glas liegend, sogleich nach der Isolirung abgebildet. A durch einen Längsschnitt in zwei gleiche Hälften getrennt. *B* durch einen Kreisschnitt ist das Holz aus der Rinde isolirt; letztere durch Längsschnitte in zwei gleiche Hälften gespalten. *C* durch zwei parallele Schnitte in drei Theile getrennt. *D* nach Entfernung der Rinde ist der peripherische Theil (*a*) des Holzes durch einen Kreisschnitt vom centralen (*b*) getrennt, und dann ersterer bei r durchschnitten; die beiden jetzt freien Enden schoben sich sofort über einander (*r* und *r'*). *A'*, *B'*, *C'*, *D'* dieselben Präparate nach 15 Minuten in Wasser, vergl. § 6 S. 51.

messer gemacht, die Kreisschnitte mit einem Korkbohrer. Betrachten wir jetzt die in den einzelnen Fällen erhalten Resultate der Reihe nach.

Fig. 4 *A* zeigt uns den einfachsten Fall, wo die Scheibe durch

einen Schnitt in zwei Hälften gespaltet worden ist. Die Schnittränder biegen sich sofort, die Mitte wird concav, im Cambium wird der Rand beiderseits convex, und die Rinde erscheint wie eingezogen. Ueber die absoluten Grössenänderungen erlaubt diese Methode der Beobachtung kein Urtheil zu fällen, aber sie lehrt, dass das cambiale Gewebe sich relativ ausgedehnt hat, während das centrale Holz und die äusserste Rinde sich relativ verkleinert haben. Dasselbe zeigt in noch schlagenderer Weise die Figur 4 *C*, für welche die Scheibe durch zwei parallele Schnitte in drei annähernd gleiche Theile gespalten wurde. Die beiden seitlichen Theile verhalten sich wie die Hälften der Scheibe *A*, der mittlere Streifen zeigt die relative Ausdehnung der dem Cambium benachbarten jüngeren Theile und die relative Zusammenziehung des Holzes und der Rinde in äusserst schöner Weise.

In der im Figur 4 *B* abgebildeten Scheibe wurde das Holz durch einen Kreisschnitt von der Rinde getrennt und dann letztere in zwei Hälften gespalten. Sofort verminderten diese ihre Krümmung, und zeigten dadurch eine relative Ausdehnung der inneren Theile, eine relative Zusammenziehung der äusseren Partien an.

Um zu erfahren, welche Spannungen im Holze selbst vorhanden sind, wurde die Rinde entfernt und dann aus der übrig gebliebenen Holzscheibe mittelst eines Korkbohrers der centrale Theil isolirt (Fig. 4 *D b*). Der äussere Ring wurde nun an einer Stelle (*D a* bei *r*) geöffnet, die beiden freien Enden schoben sich sofort übereinander (*r* und *r'*) und zeigten dadurch an, dass die äussere Zone sich im Verhältniss zur inneren Zone des Ringes bedeutend vergrösserte.

Isolirt man aus einer Wurzel den Holzkörper, und spaltet diese durch einen axilen Schnitt in zwei Hälften, so klafft die Wunde, während die Ränder des Schnittes sich noch berühren. Spaltet man den isolirten Holzkörper durch zwei parallele Schnitte, so klaffen beide Wunden in derselben Weise. Ich beobachtete dieses bei *Dipsacus Fullonum* und *Cynara Scolymus*; es war übrigens aus den in Fig. 4 *A* und *C* abgebildeten Erscheinungen vorherzusehen.

Das Resultat dieser Beobachtungen ist folgendes:

1. Die jüngsten, cambialen Gewebepartien dehnen sich in querer Richtung bei der Isolirung relativ am kräftigsten aus.
2. Die äusserste Rinde und das centrale Holz ziehen sich in querer Richtung bei der Isolirung relativ am stärksten zusammen.
3. Die dazwischen liegenden Gewebe bilden allmälige Uebergänge.

4. In den lebenden Wurzeln sind also die jüngsten cambialen Theile in querer Richtung relativ zusammengepresst, das centrale Holz und die Rinde relativ gedehnt.

Vergleicht man jetzt diese Resultate mit den früher für die Längsspannung erhaltenen, so ergiebt sich ein genau entgegengesetztes Verhalten, wie ja aus dem Gleichbleiben des Volumes der einzelnen Theile bei der Isolirung zu erwarten war.

Wir finden:

1. Die jüngsten cambialen Gewebepartien verkürzen sich bei der Isolirung in der Längsrichtung und dehnen sich dabei in der Querrichtung aus.
2. Die älteren Theile (Holz und Rinde) verlängern sich in der Längsrichtung und ziehen sich in der Querrichtung zusammen.
3. In der lebenden Wurzel sind also die jüngsten Theile der Länge nach gedehnt und der Quere nach zusammengedrückt; die älteren Theile dagegen in der Längsrichtung zusammengedrückt und in der Querrichtung gedehnt.

II. Die Veränderungen der Wurzeln bei Aufnahme von Wasser.

§ 4. *Methode der Versuche.*

Bevor ich zu der Beschreibung der einzelnen Versuche übergehe, will ich einiges über die Anordnung der Versuche im Allgemeinen mittheilen. Ich fasse dabei hauptsächlich diejenigen Versuche in's Auge, durch welche es galt, die Frage zu entscheiden, ob die Wurzeln bereits durch eine einfache Aufnahme von Wasser eine Verkürzung erleiden würden. Es musste dabei also die Länge der frischen Wurzel mit der Länge desselben Abschnittes nach kürzerem oder längerem Aufenthalte in Wasser verglichen werden.

Die Methode der Messungen war im Allgemeinen dieselbe, welche auch bei dem Studium der Längenänderungen wachsender Organe durch das Wachsthum, durch Turgoränderungen u. s. w. benutzt wird. Es wurden auf jede zu untersuchende Wurzel, nachdem sie gut gereinigt und von Nebenwurzeln befreit war, zwei oder mehrere Marken mit Tusche in bestimmter Entfernung aufgetragen. Man lässt die Marken einen Augenblick trocknen, nachher ertragen sie ohne Schade einen mehrtägigen Aufenthalt unter Wasser. Ich mache die obere (dem Wurzelhalse zugekehrte) Seite der Marke stets sorgfältig grade und scharf, und lege den Maasstab immer

an dieser Seite an. Die Dicke der Marke so wie die Form der unteren Seite ist dann ziemlich gleichgültig. Dieses Verfahren scheint mir zweckmässiger als das Auftragen sehr feiner Marken, deren Mitte dann als die markirte Stelle gilt. Auch sind dickere Marken, zumal wenn die Entfernung mehrere Centimeter beträgt, aus vielen Rücksichten bequemer als dünnere.

Um die Marken aufzutragen, benutze ich eine Korkplatte, auf deren einer Längshälfte eine andere Korkplatte befestigt ist; letztere hat ungefähr die Dicke der zu verwendenden Wurzeln. Die Wurzel wird nun gegen den Rand der oberen Platte angelegt und mit Nadeln, welche dicht neben der Wurzel in die untere Platte gesteckt werden, befestigt und nöthigenfalls angedrückt. Ich lege dann einen in Millimeter eingetheilten Maasstab auf die obere Korkplatte der Art gegen die Wurzel, dass die Enden der auf der schiefen Kante liegenden Millimeterstriche die Wurzeloberfläche berühren. Es ist dann leicht, mittelst eines Pinsels die Marken so auf der Wurzel zu ziehen, dass ihre Vorderseite genau in der Verlängerung der Theilstriche fällt. Die Entfernung der Marken ist je nach der Stärke der Wurzel und nach dem Zweck des Versuchs eine verschiedene. Die so markirten Wurzeln werden zur Messung während oder am Ende der Versuche in derselben Weise auf die Korkplatte befestigt und der Maasstab in derselben Weise angelegt; man kann dann ohne Mühe Zehntel-Millimeter durch Schätzung ablesen.

Die Wahl des Versuchsmaterials spielt eine sehr wichtige Rolle, denn da die Verkürzungen, wie man im nächsten Paragraphen sehen wird, immer nur wenige Prozente betragen, ist es sehr wesentlich, solche Wurzeln zu wählen, welche sich am kräftigsten verkürzen. Die Erfahrung hat mich gelehrt, dass man solche mit dem besten Erfolg unter den diesjährigen Exemplaren zwei oder mehrjäriger Gewächse sucht; viele unter ihnen zeigen im Juli sehr kräftige Verkürzungen, auch bei kurzem Aufenthalt im Wasser.

Ganz besonders empfehle ich diesjährige Pflanzen der Weberkarde (*Dipsacus Fullonum*), des gemeinen Kümmels (*Carum Carvi*) und der Artischoke (*Cynara Scolymus*), welche ich zu weitaus den meisten Versuchen abwechselnd benutzte. Die Pflanzen waren in einem fruchtbaren Gartenboden kräftig gewachsen, ihre Hauptwurzeln waren meist 5—10 *mm* dick, und die Zahl ihrer erwachsenen Blätter war bei den Artischoken meist 3—5, bei den beiden anderen etwa 8—10. Gewöhnlich eignete sich ein etwa 10 *cm* langer Theil der Hauptwurzel dieser Pflanzen für die Versuche.

Die Vorbereitung der Wurzeln für den Versuch erfordert eine be-

sondere Beachtung. Es ist selbstverständlich, dass wenn man den Einfluss der Aufnahme von Wasser durch die frischen Wurzeln studiren will, diese während der Vorbereitung weder Wasser verlieren, noch welches aufnehmen dürfen. Die Wurzeln müssen aber in Wasser gewaschen werden, um sie zu reinigen, dieses muss nun offenbar sehr rasch geschehen und die Wurzeln müssen gleich nachher gut abgetrocknet werden. Trägt man die ausgegrabenen Wurzeln aus dem Garten in's Laboratorium, so ist es wichtig, schon im Garten die Blätter abzuschneiden, da diese sonst aus den Wurzeln Wasser an sich ziehen, wie das zumal bei trockenem Wetter der Fall sein wird. Dass diese beiden Fehlerquellen messbare Fehler herbeiführen können, wird sich aus einigen der unten zu beschreibenden Versuche deutlich ergeben.

Wenn man die Wurzeln während des Versuches längere Zeit in Wasser aufbewahrt, so setzt man sich der Gefahr aus, dass der Zutritt des Sauerstoffes ein ungenügender wird. Um dieser Gefahr möglichst vorzubeugen, habe ich in den meisten Versuchen die Wurzeln in flache Schälchen gebracht, und nur soviel Wasser aufgegossen, dass sie grade davon bedeckt waren; ich liess dann die Schälchen selbst unbedeckt. Wo die Umstände es nicht erlaubten, solche Schälchen anzuwenden, und ich statt deren Cylindergläser benutzte, fingen die Wurzeln oft schon am zweiten Tage an abzusterben, und dürfte der Versuch gewöhnlich also nur 24 Stunden dauern. Wie wir später sehen werden, verlängern sich die Wurzeln beim Tode; sterben also einige oder mehrere Zellen, so wird dadurch die Verkürzung des Ganzen verringert oder gar aufgehoben werden.

Einige Versuche wurden in dem heissen Juli von 1878, andere während der regnerischen Tage des Juli 1879 gemacht; zu beiden Zeiten zeigten sich die Pflanzen für meine Zwecke sehr geeignet.

§ 5. *Verkürzung der Wurzeln durch Wasseraufnahme.*

Die Einsicht in die Mechanik der Wurzelkontraktion beruht wesentlich auf dem Nachweise der Thatsache, dass die Wurzeln sich durch Aufnahme von Wasser verkürzen. Ich habe daher diesem Gegenstande eine lange Reihe von Versuchen gewidmet, welche ausnahmslos zu demselben Resultate führten. In den meisten Versuchen wurde durch zwei Marken eine gewisse Strecke abgegrenzt und deren Verkürzung nach einiger Zeit gemessen, in anderen wurde diese Strecke noch durch weitere Marken in Partialzonen vertheilt, um ein Urtheil über die Vertheilung der Kontrak-

tion über das untersuchte Wurzelstück zu gewinnen. In vielen Versuchen wurden die Wurzelstücke von allen anhängenden Theilen befreit und in Wasser aufbewahrt; in anderen wurden die ganzen aus der Erde genommenen Pflanzen mit möglichst geringer Verletzung als Wasserkulturen aufgestellt. Ich führe jetzt die einzelnen Versuche der Reihe nach an.

I.

Lappa tomentosa.

Kräftige, diesjährige Pflanzen mit je 3—4 Blättern, Hauptwurzeln schön, ohne Runzelungen, über eine mehr als 10 *cm* lange Strecke fast gleich dick. Es wurden sieben Hauptwurzeln gleichzeitig untersucht, die Pflanzen wurden in Cylindergläsern als Wasserkulturen aufgestellt. Juli 1878. Die Zahlen in der Tabelle sind Millimeter.

	Nummer des Exemplars						
	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.
Dicke des Wurzelhalses . . .	6	6	4	3,5	4	4	3
Anfängliche Länge	80,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	80,0
Länge nach 24 Stunden	78,7	96,0	95,7	97,2	97,3	98,0	77,0
Länge nach 2 mal 24 Stunden . .	76,0	92,1	92,6	95,7	93,2	93,3	75,8
Verkürzung in 24 Stunden . . .	1,3	4,0	4,3	2,8	2,7	2,0	3,0
Verkürzung in den folg. 3 mal 24 St.	2,7	3,9	3,1	1,5	4,1	4,7	1,2
Totale Verkürzung	4,0	7,9	7,4	4,3	6,8	6,7	4,2

Alle Wurzeln verkürzten sich sehr bedeutend; die Kontraktion war am ersten Tage grösser als an jedem der drei folgenden Tage.

II.

Taraxacum officinale.

Junge Pflanzen mit ziemlich dünner Wurzel und wenigblättriger Rosette wurden aus dem Boden gehoben und nachdem die Marken aufgetragen waren, als Wasserkulturen aufgestellt. Juli 1879.

Die Zahlen in der Tabelle sind Millimeter.

	Nummer des Exemplars				
	1.	II.	III.	IV.	V.
Dicke des Wurzelhalses	6	5	3	2,5	2,5
Anfängliche Länge	80,0	80,0	100,0	60,0	50,0
Länge nach 24 Stunden	78,1	78,2	96,0	59,0	48,7
Länge nach 3 mal 24 Stunden	75,6	77,0	94,6	57,5	48,2
Verkürzung in 24 Stunden	1,9	1,8	4,0	1,0	1,3
Verkürzung in den folgenden 3 mal 24 Stunden.	2,5	1,2	1,4	1,5	0,5
Totale Verkürzung	4,4	3,0	5,4	2,5	1,8

Bedeutende Verkürzung aller Wurzeln, am ersten Tage mehr als an jedem der drei folgenden.

III.

Trifolium pratense.

Diesjährige Pflanzen, an denen die kleinen Sprosse noch kaum zwischen den Stipulae der Wurzelblätter hervortraten. Nach der Markirung als Wasserkultur aufgestellt. Juli 1878.

	Nr. des Exemplars I.	II.
Dicke der Wurzel	3,5 mm.	4 mm.
Anfängliche Länge	50,0 „	50,0 „
Länge nach 24 Stunden	49,4 „	49,5 „
Länge nach 4 mal 24 Stunden	49,2 „	49,2 „
Verkürzung in 24 Stunden	0,6 „	0,5 „
Verkürzung in den folgenden 3 mal 24 Stunden	0,2 „	0,3 „
Totale Verkürzung	0,8 „	0,8 „

Verkürzung nicht sehr ansehnlich, anfangs rascher als später.

IV.

Medicago sativa.

Kräftige diesjährige Pflanzen wurden aus dem Garten genommen und nach der Markirung als Wasserkultur aufgestellt. An Nr. 1 wurde eine Hauptwurzel, an Nr. 2 eine Nebenwurzel untersucht. Juli 1878.

	Nr. des Exemplars I.	II.
Dicke der Wurzel	5 mm.	1 mm.
Anfängliche Länge	50,0 „	30,0 „
Länge nach 24 Stunden	49,6 „	29,6 „
Verkürzung	0,4 „	0,4 „

V.

Dispacus sylvestris.

Pflanzen des ersten Jahres mit je 10—12 Blättern; sie wurden als Wasserkultur aufgestellt. An Nr. 1 wurde eine Hauptwurzel, an Nr. 2 eine Nebenwurzel markirt. Juli 1878.

	Nr. des Exemplares	
	I.	II.
Dicke der Wurzel	8 mm.	1,5 mm.
Anfängliche Länge	100,0 „	50,0 „
Länge nach 24 Stunden	97,3 „	48,5 „
Länge nach 3 mal 24 Stunden	96,0 „	48,4 „
Verkürzung in 24 Stunden	2,7 „	1,5 „
Verkürzung während der folgenden 24 Stunden.	1,3 „	1,6 „
Totale Verkürzung.	4,0 „	1,6 „

Sowohl die Hauptwurzel als die Nebenwurzel verkürzten sich im Wasser; beide anfangs stärker als später.

VI.

Brassica Napus.

Eine sehr junge Pflanze, deren beide Cotylen noch saftig und grün waren und welche ausser diesen nur vier Blätter trug. Sie wurde als Wasserkultur untersucht. Juli 1878.

Dicke des hypocotylen Gliedes	2,3 mm.
Anfängliche Länge	40,0 „
Länge nach 20 Stunden	39,0 „
Länge nach 4 Tagen	38,0 „
Verkürzung in den ersten 20 Stunden	1,0 „
Totale Verkürzung	2,0 „

Man sieht, dass die Kontraktion der Wurzeln bereits in einem sehr frühen Stadium der Entwickelung anfängt.

VII.

Carum Carvi.

Kräftige diesjährige Exemplare mit je 5—12 Blättern, deren Wurzel in der oberen Strecke bereits deutliche Querrunzeln zeigte. Sie wurden nach dem Auftragen der Marken als Wasserkultur aufgestellt; die erste Messung fand zwei Stunden nach der Markirung statt. Juli 1878.

Die Zahlen in der Tabelle sind Millimeter.

	Nummer des Exemplars						
	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.
Dicke der Wurzel	7	7	6	5	3,5	4	6
Anfängliche Länge	90,0	100,0	50,0	100,0	100,0	70,0	100,0
Länge nach 2 Stunden	89,0	100,0	49,5	100,0	99,1	70,0	98,6
Länge nach 21 Stunden	86,3	98,0	47,5	99,0	97,1	67,5	95,5
Länge nach 4 mal 24 Stunden	85,0	96,2	—	94,7	94,0	64,7	94,0
Verkürzung in den ersten 2 Stunden.	1,0	0,0	0,5	0,0	0,9	0,0	1,4
Verkürzung in den folg. 19 Stunden.	2,7	2,0	2,0	1,0	2,0	2,5	3,1
Verkürzung in den folg. 3 Tagen	1,3	1,8	—	4,3	3,1	2,8	1,5
Totale Verkürzung	5,0	5,8	2,5	5,3	6,0	5,3	6,0

Berechnet man aus diesen Daten die mittleren stündlichen Verkürzungen für die verschiedenen Zeiträume, so erhält man folgende in Zehntel-Millimeter ausgedrückten Verkürzungen.

Nr. des Exemplars.	Stündliche Verkürzung in den ersten 2 Stunden;	folgenden 19 St.;	folgenden 3 Tagen.
I.	5,0	1,4	0,2
II.	0,0	1,0	0,3
III.	2,5	1,0	—
IV.	0,0	0,5	0,6
V.	4,5	1,0	0,4
VI.	0,0	1,4	0,4
VII.	7,0	1,7	0,2

Man sieht, dass die Intensität der Verkürzung von Anfang an stetig abnimmt. Die Exemplare II, IV und VI machen von dieser Regel insofern eine Ausnahme, als sie in den zwei ersten Stunden keine messbare Verkürzung zeigten.

VIII.

Carum Carvi.

Pflanzen von demselben Alter wie in dem vorigen Versuch; die Blätter und Nebenwurzeln wurden aber abgeschniten und die zu untersuchenden Wurzelstücke in einer flachen Glasschale in einer niedrigen Wasserschicht untergetaucht aufbewahrt. Juli 1878.

Die Zahlen in der Tabelle sind Millimeter.

	Nummer des Exemplars						
	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.
Dicke der Wurzel	4	8	3,5	4	4	4	4
Anfängliche Länge	100,0	60,0	100,0	100,0	100,0	80,0	50,0
Länge nach 2 Stunden	99,0	60,0	98,7	99,2	99,3	79,3	49,8
Länge nach 24 Stunden	97,9	59,4	96,7	98,1	97,1	78,1	49,0
Länge nach 3 Tagen	97,5	58,8	94,9	97,2	—	77,3	49,0
Verkürzung in den ersten 2 Stunden .	1,0	0,0	1,3	0,8	0,7	0,7	0,2
Verkürzung in den folg. 22 Stunden .	1,1	0,6	2,0	1,1	2,2	1,2	0,8
Verkürzung in den letzten 2 Tagen.	0,4	0,6	1,8	0,9	—	0,8	0,0
Totale Verkürzung	2,5	1,2	5,1	2,8	2,9	2,7	1,0

Rechnet man diese Zahlen auf mittlere stündliche Verkürzungen um, und drückt man diese in Zehntel-Millimeter aus, so erhält man folgende Uebersicht:

Nr. des Exemplars.	Stündliche Verkürzung in den ersten 2 St.;	folgenden 22 St.;	folgenden 2 Tagen.
I.	5,0	0,5	0,08
II.	0,0	0,3	0,13
III.	6,5	0,9	0,4
IV.	4,0	0,5	0,2
V.	3,5	1,0	—
VI.	3,5	0,5	0,16
VII.	1,0	0,35	0,0

Man sieht, dass die Intensität der Verkürzung, genau wie im vorigen Versuch von Anfang an rasch und stetig abnimmt. Nur in einem Exemplar war die Verkürzung nach zwei Stunden nicht merkbar.

IX.

Cynara Scolymus.

Hauptwurzeln kräftiger diesjähriger Pflanzen wurden von allem Anhang und von den Blättern befreit und theils in flachen Schälchen (I, II, III) liegend, theils in einem niedrigen weiten Cylinderglase (IV) stehend untersucht. Juli 1879.

Die Zahlen der Tabelle sind Millimeter.

	Nummer des Exemplars I.	II.	III.	IV.
Dicke der Wurzel	6	7	7	6
Anfängliche Länge	80,0	100,0	80,0	80,0
Länge nach 24 Stunden	79,3	98,7	79,4	78,3
Länge nach 2 mal 24 Stunden	78,5	98,2	79,2	78,1
Länge nach 5 mal 24 Stunden	—	—	—	77,4
Verküzung in den ersten 24 Stunden . .	0,7	1,3	0,6	0,7
Verkürzung in den folgenden 24 Stunden.	0,8	0,5	0,2	0,2
Verkürzung in den folg. 3 mal 24 Stunden .	—	—	—	0,7
Totale Verkürzung	1,5	1,8	0,8	2,6

Verkürzung in allen deutlich, anfangs meist stärker als nachher.

X.

Dipsacus Fullonum.

Kräftige diesjährige Hauptwurzeln wurden nach Entfernung der Blätter und der Nebenwurzeln in einer flachen Schale in wenig Wasser untersucht. Juli 1879.

	Nummer des Exemplars		
	I.	II.	III.
Dicke der Wurzel	9 mm.	9 mm.	8 mm.
Anfängliche Länge	100,0 „	70,0 „	80,0 „
Länge nach 24 Stunden	98,4 „	69,1 „	78,5 „
Länge nach 2 mal 24 Stunden	98,1 „	68,5 „	78,5 „
Verkürzung in den ersten 24 Stunden	1,6 „	0,9 „	1,5 „
Verkürzung in den folgenden 24 Stunden	0,3 „	0,6 „	0,0 „
Totale Verkürzung	1,9 „	1,5 „	1,5 „

Verküzung anfangs rascher als später. Bei einer vierten Wurzel betrug die Verkürzung auf 80,0 mm in 18 Stunden 2,0 mm.

XI.

Beta vulgaris saccharifera.

Sehr starke diesjährige Pflanzen mit zahlreichen Blättern und einer 2,5 bis 3 cm dicken Rübe wurden von allem Anhang befreit und im nahezu cylindrischen Theil der Wurzel, unterhalb der jungen Rübe markirt. Juli1879.

	Nummer des Exemplars.		
	I.	II.	III.
Anfängliche Länge	100,0 mm.	100,0 mm.	100,0 mm.
Länge nach 24 Stunden	98,0 „	98,1 „	99,3 „
Länge nach 2 mal 24 Stunden	98,2 „	97,2 „	98,6 „
Verkürzung in den ersten 24 Stunden.	0,2 „	0,9 „	0,7 „
Verkürzung in den folg. 24 Stunden.	0,6 „	0,9 „	0,7 „
Totale Verkürzung	0,8 „	1,8 „	1,4 „

XII.

Polygonum aviculare.

Von einer Pflanze mit einem aufsteigenden und mehreren liegenden Stengeln wurde die Hauptwurzel abgeschnitten und in einem Cylinderglase mit Wasser untersucht. Juli 1879.

Dicke der Wurzel	2	mm.
Anfängliche Länge	90,0	„
Länge nach 2 mal 24 Stunden	89,8	„
Länge nach 5 mal 24 Stunden	89,1	„
Verkürzung in den ersten 2 mal 24 Stunden	0,2	„
Verkürzung in den folgenden 3 mal 24 Stunden	0,7	„
Totale Verkürzung	0,9	„

XIII.

Plantago lanceolata.

Diesjährige mehrblättrige Pflanze. Hauptwurzel ohne Blätter und Seitenwurzeln in einem Cylinderglase mit Wasser untersucht. Juli 1879.

Dicke der Wurzel	2	mm.
Anfängliche Länge	40,0	„
Länge nach 24 Stunden	39,9	„
Länge nach 2 mal 24 Stunden	39,5	„
Verkürzung am ersten Tage	0,1	„
Verkürzung am zweiten Tage	0,4	„
Totale Verkürzung	0,5	„

XIV.

Calendula officinalis.

Junge Saatpflanzen, deren Stengel wenige Centimeter hoch war; die Hauptwurzel in einem Cylinderglase unter Wasser untersucht. Juli 1879.

	Nr. des Exemplars.		
	I.	II.	III.
Dicke der Wurzel	4 mm.	4 mm.	4 mm.
Anfängliche Länge	100,0 „	100,0 „	150,0 „
Länge nach 24 Stunden	99,6 „	99,7 ..	149,4 „
Verkürzung	0,4 „	0,3 „	0,6 „

XV.

Verbascum Thapsus.

Diesjährige Pflanzen mit einer reichblättrigen Rosette von Wurzelblättern. Die isolirten Hauptwurzeln in einem Cylinderglas unter Wasser. Juli 1879.

	Nr. des Exemplars.		
	I.	II.	III.
Dicke der Wurzel	3 mm.	3 mm.	3 mm.
Anfängliche Länge	100,0 „	100,0 „	70,0 „
Länge nach 24 Stunden	99,8 „	99,4 „	68,8 „
Verkürzung	0,2 „	0,6 „	1,2 „

XVI.

Melilotus coerulea.

Blühende Pflanze, 2 bis 3 Monate alt. Hauptwurzel nach dem Abschneiden des Stengels im Cylinderglase mit Wasser. Juli 1879.

Dicke der Wurzel	5 mm.
Anfängliche Länge	100,0 „
Länge nach 24 Stunden .	99,3 „
Verkürzung	0,7 „

XVII.

Malva rotundifolia.

10—15 cm hohe, verzweigte diesjährige Pflanzen. Hauptwurzeln isolirt und im Cylinderglase unter Wasser gebracht. Juli 1879.

	Nr. des Exemplars.		
	I.	II.	III.
Dicke der Wurzel	7 mm.	3 mm.	4 mm.
Anfängliche Länge . . .	100,0 „	100,0 „	70,0 „
Länge nach 24 Stunden . .	99,5 „	99,2 „	69,6 „
Verkürzung	0,5 „	0,8 „	0,4 „

XVIII.

Papaver somniferum.

Isolirte Hauptwurzeln von nahezu blühenden Pflanzen. Juli 1879. Im Cylinderglase.

	Nr. des Exemplars.			
	I.	II.	III.	IV.
Dicke der Wurzel	14 mm.	10 mm.	7 mm.	6 mm.
Anfängliche Länge	70,0 „	80,0 „	50,0 „	40,0 „
Länge nach 24 Stunden . .	69,3 „	79,3 „	49,7 „	39,7 „
Verkürzung	0,7 „	0,7 „	0,3 „	0,3 „

XIX.

Hyacinthus orientalis.

Wurzeln einer blühenden auf Wasser kultivirten Hyacinthen-Zwiebel wurden im Februar 1879 abgeschnitten, markirt und in einer flachen Schale in Wasser bei 20 bis 25° C. aufbewahrt.

	Nr. des Exemplars.			
	I.	II.	III.	IV.
Anfängliche Länge	50,0 mm.	50,0 mm.	30,0 mm.	40,0 mm.
Länge nach 2 Tagen	48,6 „	28,4 „	29,0 „	29,3 „
Länge nach 6 Tagen	47,8 „	47,7 „	28,1 „	29,0 „
Verkürzung in der ersten 2 Tagen .	1,4 „	1,6 „	1,0 „	0,7 „
Verkürzung in den folg. 4 Tagen	0,8 „	0,7 „	0,9 „	0,3 „
Totale Verkürzung	2,2 „	2,3 „	1,9 „	1,0 „

XX.

Carum Carvi.

In allen bisherigen Versuchen war jedesmal nur eine Strecke durch zwei Marken abgegrenzt und untersucht. In diesem und den beiden folgenden Versuchen habe ich die Wurzeln durch zahlreiche Marken in eine grössere Zahl von Partialzonen getheilt, um ein Urtheil über die Vertheilung der Kontraktion über die Wurzeln zu gewinnen.

Es wurden diesjährige Pflanzen von *Carum Carvi* mit 10—12 Blättern ausgegraben und als Wasserkulturen aufgestellt. Der Versuch dauerte 2 mal 24 Stunden, die Länge aller Partialzonen war anfangs 10,0 mm. Ich gebe für jede Wurzel zunächst die direkt gemessenen Entfernungen der einzelnen Marken von der obersten Marke, dann die daraus berechneten Verkürzungen der einzelnen Partialzonen. Zunächst für zwei 4 resp. 5 mm dicke, anfangs 100,0 mm lange und in 10 Partialzonen eingetheilte Wurzeln.

	I.		II.	
	Entfernung der Marken.	Verkürzung.	Entfernung der Marken.	Verkürzung.
Obere Zone	9,5	0,5	9,8	0,2
Zweite „	19,1	0,4	19,6	0,2
Dritte „	28,6	0,5	22,5	0,3
Vierte „	38,2	0,4	39,0	0,3
Fünfte „	47,2	0,8	48,7	0,3
Sechste „	57,2	0,2	58,2	0,5
Siebente „	66,8	0,4	67,8	0,4
Achte „	76,2	0,6	77,3	0,5
Neunte „	86,1	0,1	87,2	0,1
Zehnte „	9,59	0,2	96,6	0,6

Ferner für drei in 5 Partialzonen von je 10 mm eingetheilte Wurzeln, deren Dicke 5, und 4 mm betrug.

	I.		II.		III.	
	Entfernung der Marken.	Verkürzung.	Entfernung der Marken.	Verkürzung.	Entfernung der Marken.	Verkürzung.
Obere Zone	10,0	0,0	10,0	0,0	10,0	0,0
Zweite „	19,3	0,7	19,6	0,4	19,7	0,3
Dritte „	29,2	0,1	29,5	0,1	29,4	0,3
Vierte „	39,0	0,2	39,2	0,3	39,1	0,3
Fünfte „	48,4	0,6	48,7	0,5	48,7	0,4

Die Versuche zeigen, dass häufig die oberste Zone sich nicht an der Kontraktion betheiligt. Ferner dass die Kontraktion über die einzelnen Zonen oft sehr ungleichmässig vertheilt ist, was wohl darin seinen Grund haben mag, dass der Widerstand, den die pas-

siven Elemente ausüben, je nach den Biegungen, welche diese bereits erlitten haben, eine sehr verschiedene sein wird (vergl. § 1 und 2). Berechnet man die Verkürzungen auf grössere Partialzonen, z. B. auf solche von 20 mm Länge, so verschwinden diese Unregelmässigkeiten, wie zu erwarten, mehr oder weniger. Eine stetige Aenderung der Intensität der Kontraktion nach oben ober nach unten ist nicht zu bemerken.

XXI.

Dipsacus sylvestris.

Hauptwurzel einer kräftigen diesjährigen 10 blättrigen Pflanze in 10 Partialzonen von je 10 mm eingetheilt, die Pflanze dann als Wasserkultur aufgestellt und nach 2 Tagen gemessen. Dicke der Wurzel 8 mm. Juli 1878.

	Entfernung der Zonen.	Verkürzung der Zonen.	Auf Zonen von 20 mm. berechnet.
Obere Zone	10,0	0,0	
Zweite „	19,5	0,5	0,5
Dritte „	29,1	0,4	
Vierte „	38,8	0,3	0,7
Fünfte „	48,7	0.1	
Sechste „	58,3	0,4	0,5
Siebente „	68,0	0,3	
Achte „	77,8	0,2	0,5
Neunte „	87,4	0,4	
Zehnte „	97,3	0,1	0,5

XXII.

Lappa tomentosa.

Kräftige einjährige Pflanze mit vier erwachsenen Blättern und 6 mm dicker Hauptwurzel. Partialzonen von 10,0 mm. Pflanze als Wasserkultur aufgestellt, nach 20 Stunden gemessen.

	Entfernung der Marken	Verkürzung der Zonen.
Obere Zone	9,9	0,1
Zweite „	19,7	0,2
Dritte „	29,3	0,4
Vierte „	38,8	0,5
Fünfte „	48,3	0,5
Sechste „	57,9	0,4
Siebente „	67,4	0,5
Achte „	77,0	0,4
Neunte „	86,3	0,7
Zehnte „	96,0	0,3

XXIII.

Dipsacus sylvestris.

Die bisher untersuchten Pflanzen waren immer nur wenige Monate alt; sie wurden sämmtlich im ersten Vegetations-Sommer untersucht. Ich habe zum Schlusse von zwei Pflanzen Wurzeln des zweiten Jahres untersucht, um zu erfahren, ob auch diese sich im Wasser kontrahiren.

Zunächst drei isolirte Hauptwurzeln von nahezu blühenden Pflanzen von *Dipsacus sylvestris*; sie lagen in einer flachen Glasschale in Wasser, Juli 1879.

	Nr. des Exemplars.		
	I.	II.	III.
Dicke der Wurzel	12 mm,	15 mm,	12 mm,
Anfängliche Länge	100,0 „	100,0 „	100,0 „
Länge nach 24 Stunden . . .	100,0 „	100,0 „	100,3 „
Länge nach 2 mal 24 Stunden .	100,0 „	100,0 „	100,2 „

Also in zwei Exemplaren keine Veränderung, in dem dritten eine geringe Zunahme der Länge.

XXIV.

Carum Carvi.

Zwei Hauptwurzeln von blühenden Pflanzen des zweiten Jahres, isolirt und in Glasschalen in Wasser untersucht. Juli 1879.

	Nr. des Exemplars.	
	I.	II.
Dicke der Wurzel	11 mm,	6 mm,
Anfängliche Länge	100,0 „	100,0 „
Länge nach 24 Stunden	100,0 „	100,0 „
Länge nach 2 mal 24 Stunden . .	100,3 „	100,2 „

Also anfangs keine Veränderung und dann eine geringe Verlängerung.

Fassen wir zum Schlusse aus allen diesen Versuchen die Resultate zusammen:

1. Junge Wurzeln kontrahiren sich ganz allgemein, wenn sie mit der Pflanze oder ohne dieselbe in Wasser gelegt werden. Sowohl Hauptwurzeln als Nebenwurzeln, sowohl Dicotylen als Monocotylen zeigen diese Erscheinung.
2. Aeltere (über ein Jahr alte) Wurzeln kontrahiren sich, in Wasser liegend, nicht mehr.

3. Sämmtliche Zonen der Wurzel (mit Ausnahme der noch in die Länge wachsenden und benachbarten Theile der Wurzelspitzen) betheiligen sich in annähernd gleichem Maasse an der Kontraktion (bisweilen mit Ausnahme der obersten 1 cm langen Zone).
4. Die Grösse der Verkürzung schwankt je nach den Arten und je nach der Dauer des Versuches; sie beträgt gewöhnlich nur wenige Procente der ganzen Länge.
5. Die Verkürzung ist in den ersten Stunden am ausgiebigsten und nimmt dann allmählig an Intensität ab.

§ 6. *Dickenänderung der Wurzeln bei der Aufnahme von Wasser.*

Wenn die Wurzeln sich durch Aufnahme von Wasser verkürzen, so müssen sie dabei offenbar an Dicke zunehmen. Die folgenden Versuche bestätigen die Richtigkeit dieser Folgerung.

Sehr zweckmässig schienen mir die dicken fleischigen Wurzeln der Zuckerrübe zu sein, da bei ihnen am wahrscheinlichsten eine direkte Messung der Verdickung durch einfaches Anlegen des Maasstabes gelingen würde. Ich habe daher an zwei der in Versuch XI des vorigen Paragraphen beschriebenen Wurzeln (I und II) die Dickenänderung gleichzeitig mit der Längenänderung gemessen. Die Rübe wurde dazu in ihrem dicksten Theile quer durchschnitten und durch ein mit Tusche aufgetragenes Kreuz zwei, auf einander senkrechte Richtungen (*a* und *b*) auf dieser Schnittfläche angegeben. Die Messungen wurden durch Anlegen des Maasstabes in diesen beiden Richtungen ausgeführt.

	I.		II.	
	a.	*b.*	*a.*	*b.*
Dicke beim Anfang	24 mm	23 mm	29 mm	28 mm
Dicke nach 24 Stunden . . .	25,5 „	24 „	30,5 „	29,5 „
Dicke nach 2 mal 24 Stunden .	26 „	24 „	31,5 „	29,5 „

Obgleich die Messung nicht bis auf Zehntel-Millimeter durchgeführt werden konnte, so ist eine Zunahme der Dicke doch über alle Zweifel erhoben.

Da es an dünneren Wurzeln nach einigen Vorversuchen nicht möglich war, eine Dickenänderung der ganzen in Wasser liegenden Wurzel ausser Zweifel zu stellen, so habe ich einen anderen Weg eingeschlagen, der in sehr bequemer Weise zum Ziel führte. Es wurden dazu etwa ½ mm dünne Längs- und Querschnitte aus der Wurzel geschnitten, diese sofort gemessen, dann in Wasser

gelegt und hier nach kurzer Zeit wieder gemessen. Die Messung geschah unter dem Mikroskop bei 8 maliger Vergrösserung. Dazu wurde die Länge jedesmal mittelst des Zeichenprisma auf Papier verzeichnet und sämmtliche Längen erst nach Beendigung des ganzen Versuches durch Anlegen des Millimeterstabes gemessen.

Zuerst wurden Querschnitte der Untersuchung unterworfen. Ich benutzte nicht den ganzen Querschnitt, sondern nur einen mittleren Theil desselben, der durch zwei parallele Schnitte isolirt wurde. Es geschah dies, um etwaigen Krümmungen des Schnittes vorzubeugen. Die benutzten Querstreifen hatten also die Form des mittleren Streifens in Fig. 4 *C* auf S. 35.

In der folgenden Tabelle führe ich die Länge der Streifen im frischen Zustande, und nach einem Aufenthalt von 50—60 Minuten in Wasser auf, wie sie direkt an den Zeichnungen gemessen wurden. Um sie auf Millimeter zu reduziren, müssen sie also noch durch 8 dividirt werden. Die letzte Spalte enthält die Differenzen, welche, wie leicht ersichtlich, sämmtlich positiv waren. Die Wurzeln waren Hauptwurzeln diesjähriger Pflanzen; der Versuch wurde im Juli 1879 angestellt.

	Länge der Streifen		Differenz
	vor Anfang	am Ende	
Cynara Scolymus . .	53	55	2
Carum Carvi	48	52	4
Beta vulgaris	100	106	6
Conium maculatum . .	80	87	7

Ferner wurden Längsschnitte von geringer Höhe (wenigen Millimetern) gemacht und in derselben Weise untersucht, nur dass hier die Breite des Schnittes gemessen wurde. Die Versuchsanordnung war in jeder Beziehung dieselbe wie in dem vorigen Versuche; ich gebe daher sogleich die Zahlen.

	Breite der Längsstreifen		Differenz
	vor Anfang	am Ende	
Dipsacus Fullonum . .	64	72	8
Cynara Scolymus . .	66	69	3
Carum Carvi	41	45	4
Beta vulgaris	90	93	3
Conium maculatum . .	88	95	7

Die Versuche zeigen, dass durch Liegen in Wasser das Wurzelgewebe sich in querer Richtung ausdehnt.

Es war nun weiter von Interesse zu erfahren, ob das Wurzelgewebe beim Liegen in Wasser an Volumen zunimmt. Es war dieses zwar von vornherein sehr wahrscheinlich, jedoch schien es mir dem Gange der empirischen Forschung entsprechend, auch diesen Punkt experimentell über allen Zweifel zu erheben.

Aus verschiedenen Gründen habe ich nicht die ganze Wurzel, sondern nur den Holzkörper zu diesem Versuche gewählt. Ich nahm ein kleines, nahezu cylindrisches Stück und spaltete hieraus eine dünne, die Achse in sich aufnehmende Lamelle. An dieser Lamelle konnte ich die Höhe und den Durchmesser des Cylinders messen, und diese beiden Grössen genügen bekanntlich zur Berechnung des Volumens.

Den Holzcylinder entnahm ich einer kräftigen drei Monate alten Pflanze gleich nachdem die nahezu viereckige Lamelle aus dem Gewebe herausgeschnitten war, wurde bei 8 maliger Vergrösserung die Länge der vier Seiten mit dem Zeichenprisma auf Papier gezeichnet. Dann wurde die Scheibe in Wasser gelegt und nach einer halben Stunde wurden die Längen der vier Seiten in derselben Weise fixirt. Die gezeichneten Linien hatten folgende Längen.

		Länge	Breite
Vor Anfang des Versuchs	a)	116 mm,	122 mm,
	b)	112 „	127 „
Im Mittel:		114 mm.	124,5 mm.
Nach einer halben Stunde	a)	108 mm,	127 mm.
	b)	102 „	136 „
		105 mm.	131,5 mm.

Es betrug also

die Verkürzung in der Längsrichtung . . 9 mm.

die Ausdehnung in der Querrichtung . . 7 mm.

Für das Volumen des Cylinders beim Anfang des Versuchs haben wir also $v = \pi r^2 h$, wo

$$r = \tfrac{1}{2} \times 124{,}5 \quad h = 114$$

also $v = 1387{,}1$.

Für das Volumen des Cylinders nach dem Aufenthalt in Wasser hätten wir $V = \pi R^2 H$, wo

$$R = \tfrac{1}{2} \times 131{,}5 \quad H = 105$$

also $V = 1426{,}3$.

Das Volumen vor und nach der Wasseraufnahme verhält sich also wie 1387,1 : 1426,3 oder wie 100 : 102,8. Die Vergrösserung des Volumens ist also unzweifelhalft, wenn auch nicht sehr gross.

Ich bemerke, dass die Verkürzung im Centrum geringer war als

an den beiden Seiten, dass daher der obige Werth für das Volumen nach der Wasseraufnahme um etwas zu klein ist. Auch ist zu berücksichtigen, dass der Versuch nur eine halbe Stunde dauerte.

§ 7. *Dimensionsänderungen der einzelzen Gewebepartien bei der Aufnahme von Wasser.*

Wir haben bis jetzt immer die Wurzeln als Ganzes den Versuchen unterworfen, und wollen jetzt untersuchen, wie sich die verschiedenen Gewebepartien bei der Aufnahme des Wassers verhalten. Wir betrachten zunächst die Aenderungen in der Längsrichtung und dann die in der Breite.

Von zwei sich kräftig verkürzenden Hauptwurzeln von *Cynara Scolymus* wurden Rindenstreifen von 4—5 mm Breite vom Holzkörper isolirt, in der üblichen Weise mit Marken versehen und in Wasser gebracht.

	I.	II.
Entfernung der Marken beim Anfang des Versuchs	60,0 mm	60,0 mm,
do. nach 2½ Stunden	59,0 „	59,3 „
do. nach 20 Stunden	58,7 „	58,8 „
Verkürzung in den ersten 2½ Stunden.	1,0 „	0,7 „
Verkürzung in den folgenden 17½ Stunden . . .	0,3 „	0,5 „
Totale Verkürzung	1,3 „	1,2 „

Die isolirte Rinde verkürzt sich also in derselben Weise wie die ganze Wurzel. Die Streifen krümmten sich mit der Innenseite concav, zum Beweise, dass die Verkürzung hauptsächlich ihren Sitz im jüngeren Gewebe hatte.

Ich isolirte aus drei kräftigen, jungen Hauptwurzeln von *Dipsacus Fullonum* den Holzkörper in einer Länge von etwa 50—60 cm, zeichnete Marken auf ihre Oberfläche und legte sie in einer flachen Schale mit Wasser. Die Messungen ergaben folgendes.

	Nr. des Exemplars.		
	I.	II.	III.
Anfängliche Länge	50,0 mm,	50,0 mm,	40,0 mm,
Länge nach 6 Stunden	49,6 „	49,4 „	39,9 „
Länge nach 24 Stunden	49,5 „	49,3 „	39,7 „
Länge nach 48 Stunden	49,3 „	49,2 „	39,5 „
Verkürzung in den ersten 6 Stunden . .	0,4 „	0,6 „	0,1 „
Verkürzung in den folgenden 18 Stunden .	0,1 „	0,1 „	0,2 „
Verkürzung in den letzten 24 Stunden . .	0,2 „	0,1 „	0,2 „
Totale Verkürzung	0,7 „	0,8 „	0,5 „

Der isolirte Holzkörper verkürzt sich also in Wasser liegend in derselben Weise wie die ganze Wurzel.

Ein zweiter Versuch wurde mit isolirten Holzkörpern von *Carum Carvi* gemacht; die Wurzeln waren Hauptwurzeln von kräftigen 2—3 Monate alten Pflanzen. Während des Versuchs lagen die Holzkörper in eener flachen Glasschale in Wasser.

Die Messungen ergaben folgende in Millimeter ausgedrückte Werthe.

	Nr. des Exemplars.				
	I.	II.	III.	IV	V.
Dicke des Holzkörpers	6	3,5	3	4	2
Anfängliche Länge	100,0	100,0	70,0	100,0	90,0
Länge nach 24 Stunden . . .	99,5	99,6	69,0	99,0	89,6
Länge nach drei Tagen . . .	99,1	99,4	69,0	98,7	—
Verkürzung in 24 Stunden . .	0,5	0,4	0,1	1,0	0,4
Verkürzung in drei Tagen . .	0,9	0,6	0,1	1,3	—

Dieser Versuch bestätigt also das an Dipsacus gewonnene Resultat.

Ich habe ferner den Holzkörper in peripherische Streifen und einen centralen Theil gespalten und untersucht, ob sich diese beiden in Wasser kontrahiren. Ich benutzte dazu die Streifen von *Cynara Scolymus*, deren Längenänderung **beim Isoliren** bereits in § 3 S. 33 beschrieben worden sind. Ich beobachtete bei ihnen, als sie in einer flachen Schale mit Wasser lagen, folgende Längenänderungen.

	I.		II.	
	Peripherie	**Centrum**	**Periph.**	**Centr.**
Länge sofort nach dem Isoliren . . .	69,3	72,0	45,9	48,0
Länge nach 2 Stunden	65,0	70,5	43,8	47,5
Länge nach 20 Stunden	64,4	70,0	43,5	47,5
Verkürzung in 2 Stunden	4,3	1,5	2,1	0,5
Verkürzung in den folgenden 18 St. .	0,6	0,5	0,3	0,0
Totale Verkürzung	4,9	2,0	2,4	0,5

Sowohl die Peripherie des Holzkörpers als das Centrum verkürzen sich also in Wasser, die peripherischen Theile aber erheblich mehr als die centralen.

Die für die Peripherie angegebenen Zahlen sind Mittelzahlen aus den an den je vier Streifen gewonnenen Werthen.

Die Längenänderungen der einzelnen Gewebe bei der Aufnahme von Wasser lassen sich in sehr schöner Weise an kleinen axilen Längsschnitten bei schwacher Vergrösserung demonstriren und messen. Ich habe dieses für einen Längsschnitt aus einer Wurzel von *Dipsacus Fullonum* in Fig. 2*B* auf S. 33 abgebildet. Man erkennt aus den Biegungen der vor dem Isoliren graden, oberen und unteren Kante, dass die jüngsten, dem Cambium zunächst gelegenen Theile sich am stärksten kontrahirt haben, und dass die Rinde und das cen-

trale Holz am wenigsten verkürzt sind. Bei *Cynara Scolymus* habe ich in einem ähnlichen Versuche, wo die Veränderungen der Hauptsache nach dieselben waren, die Länge der einzelnen Gewebe gleich nach dem Isoliren und nach einem Aufenthalt von einer Stunde in Wasser gemessen. Es geschah dieses durch Zeichnen der Lamelle mit dem Zeichenprisma bei 22 maliger Vergrösserung, und nachherigem Ausmessen der Längen auf den Zeichnungen. Als Rinde ist die mittlere Zone zwischen dem Cambium und der Korkschicht bezeichnet. Ich erhielt folgende Werthe für die einzelnen Dimensionen in den Zeichnungen:

	Länge sofort nach dem Isoliren.	Länge nach 1 St. in Wasser	Verkürzung
Rinde der einen Seite	86 mm,	81 mm,	5 mm,
Cambium der einen Seite	84 „	76 „	8 „
Centrum	89 „	83 „	6 „
Cambium der anderen Seite . . .	86 „	78 „	8 „
Rinde der anderen Seite	88 „	83 „	5 „

Die Zahlen zeigen, dass alle Theile sich verkürzen, die jüngsten aber am stärksten.

Die ungleich starken Kontraktionen, welche die einzelnen Gewebepartien bei der Wasseraufnahme erleiden, müssen bei der Wasseraufnahme der ganzen Wurzel zu Spannungen führen, resp. die bereits vorhandene Gewebespannung erhöhen. Die Natur dieser Spannungen erkennt man am deutlichsten, wenn das wasserreiche Wurzelgewebe in unvollständiger Weise der Länge nach in die einzelnen Theile zerlegt wird, oder wenn Längsstreifen aus der frischen Wurzel in Wasser gelegt werden. Wir wollen einige Versuche dieser Art beschreiben.

Ich spaltete den entrindeten Holzkörper einer Hauptwurzel von *Cynara Scolymus* und *Dipsacus Fullonum* durch einen Kreuzschnitt in vier gleiche Theile; sie blieben am unteren Ende an einander befestigt. Sofort wichen die oberen Enden auseinander, und die Krümmungen nahmen noch beträchtlich zu als die Präparate während 24 Stunden aufbewahrt wurden.

Aus dem entrindeten Holzkörper der Hauptwurzel von *Cynara Scolymus* und *Dipsacus Fullonum* schnitt ich axile Längsschnitte von etwa 2 cm Länge. Die einen zerschnitt ich der Länge nach in zwei, die anderen in drei gleich breite Streifen; diese krümmten sich sofort bei der Isolirung in der früher (§ 3) beschriebenen Weise. Jetzt legte ich sie in Wasser. Hier nahmen die beim Isoliren entstandenen Krümmungen allmählich zu, indem die Streifen sich mit dem peri-

pherischen Theil concav, mit dem centralen convex krümmten. Bei den in drei Theile zerschnittenen Lamellen blieb der mittlere nahezu grade.

Diese Erscheinungen sind in so vollständiger Uebereinstimmung mit dem Resultate des obigen Versuches über die Verkürzung der peripherischen und centralen Theile des Holzkörpers in Wasser, dass es überflüssig wäre, näher auf sie einzugehen.

Die in Fig. 3 *A* S. 34 abgebildeten Streifen von Holz und Rinde von *Dipsacus Fullonum* habe ich sofort nachdem die Zeichnung fertig war in Wasser gebracht. Sie krümmten sich hier bedeutend stärker, und hatten nach einer halben Stunde die in Fig. 3 *B* dargestellten Formen angenommen. Man sieht, dass auch hier die cambialen Gewebe jedesmal die concave, die äussere Rinde und das centrale Holz dagegen die convexe Seite der Krümmungen einnehmen.

Aus diesen und ähnlichen Beobachtungen folgt der wichtige Schluss, dass die Längsspannungen, welche durch Wasseraufnahme in dem Wurzelgewebe hervorgerufen werden, in jeder Hinsicht gleichsinnig sind mit den in der frischen Wurzel bereits vorhandenen Gewebespannungen. Was ihre Intensität anbetrifft, sind sie immer stärker. Ich komme hierauf bei der Besprechung der Querspannungen zurück.

Betrachten wir jetzt die Aenderungen der Breite der einzelnen Theile. Ich habe diese nur an dünnen Schnitten unter dem Mikroskop durch Aufnahme mit dem Zeichenprisma gemessen.

Ein Holzkörper von *Cynara Scolymus* wurde entrindet, zwei dünne Querscheiben mit dem Rasirmesser abgetragen, diese gezeichnet, und nach zwei Stunden in Wasser wieder gezeichnet; bei diesem letzten Zeichnen mussten sie durch einen starken Druck auf das Deckglas flasch gemacht werden, da sie sich stark wellig gebogen hatten. Ich mass die Zeichnungen in zwei senkrecht aufeinander stehenden, an den Scheiben und den Zeichnungen leicht kenntlichen Richtungen und fand bei 22maliger Vergrösserung folgende Werthe:

	I.		II.	
	a.	b.	a.	b.
Am Anfang	100 mm,	84 mm,	95 mm,	81 mm,
Nach zweistündigem Aufenthalt in Wasser.	103 „	90 „	103 „	94 „
Verlängerung des Diameters	3 „	6 „	8 „	13 „

Der Holzkörper dehnt sich also durch Wasseraufnahme in allen queren Richtungen aus.

Aus einer Querscheibe des frischen Holzkörpers von *Cynara Scolymus* wurde durch zwei parallele Schnitte ein mittleren Streifen

isolirt und von dieser Scheibe die Breite des Centrums und der beiden Enden bei 22maliger Vergrössung gezeichnet. Ich konnte dadurch die Ausdehnung des Centrums in radialer Richtung und die der Peripherie in tangentialer Richtung bestimmen. Ich fand an einem ersten Exemplar für die Breite des Streifens.

	Im Cambium.	In der Mitte.	Im Cambium.
Am Anfang	84 mm,	82 mm,	89 mm,
Nach ½ Stunde	100 „	85 „	103 „
Nach 2¾ Stunden	103 „	89 „	100 „
Ausdehnung in ½ Stunde . . .	16 „	3 „	14 „
Ausdehnung in den folg. 1¾ St.	3 „	4 „	7 „
Totale Ausdehnung	19 „	7 „	21 „

Die peripherischen Theile des Holzkörpers dehnen sich also stärker aus als die centralen.

Die mitgetheilten Versuche bezogen sich auf den isolirten Holzkörper. Ich habe in einigen weiteren Versuchen aus einer Querscheibe durch die ganze Wurzel einen mittleren Streifen in der durch Fig. 4 *C* auf S. 35 dargestellten Weise isolirt und die Dickenänderungen, welche die Rinde, das centrale Gewebe und das centrale Holz dieser Streifen in Wasser erfahren in der oben beschriebenen Weise gemessen. Die relativen Aenderungen erkennt man aus der Vergleichung des mittleren Streifens von Fig. 4 *C* mit dem in Fig. 4 *C*; es ist derselbe Streifen, nachdem er kurze Zeit in Wasser gelegen hatte. Die Messungen ergeben bei 22maliger Vergrösserung folgende Zahlen:

I.

Cynara Scolymus.

	Breite nach dem Isoliren	Breite nach 6 Min. in Wasser	Zunahme
Rinde (in der Mitte zwischen Kork und Cambium) . .	33 mm,	39 mm,	6 mm,
Cambium	34 „	39 „	8 „
Centrales Holz	35 „	38 „	3 „
Cambium	35 „	40 „	5 „
Rinde.	32 „	36 „	4 „

II.

Verbascum Thapsus.

	Breite nach dem Isoliren	Breite nach 1 Stunde in Wasser	Zunahme
Rinde	34 mm,	35 mm,	1 mm,
Cambium	36 „	40 „	4 „
Centrales Holz . . .	34 „	34 „	0 „
Cambium	34 „	39 „	5 „
Rinde	33 „	34 „	1 „

III.

Conium maculatum.

	Breite nach dem Isoliren	Breite nach 1 Stunde in Wasser	Zunahme
Rinde	30 mm,	30 mm,	0 mm,
Cambium	28 „	33 „	5 „
Centrales Holz . . .	26 „	27 „	1 „
Cambium	26 „	30 „	4 „
Rinde	21 „	23 „	2 „

Diese Versuche lehren uns, dass alle Theile durch Wasseraufnahme sich in querer Richtung ausdehnen, die jüngeren Gewebe aber bedeutend stärker als die Rinde und das centrale Holz.

Sehr interessant ist das Verhalten von axilen Streifen aus Querscheiben junger Zuckerrüben. Wie in dem mittleren Streifen in Fig. 4 *C* das Cambium beiderseits etwas hervorragt, so ist es in ähnlichen Präparaten aus Rüben nach der Wasseraufnahme, nur mit dem Unterschiede, dass hier jeder einzelnen cambialen Zone eine kleine Ausbuchtung entspricht. Jeder Gefässbündelkreis stellt also eine Zone maximaler Ausdehnung durch Wasseraufnahme dar. Es bestätigt diese Beobachtung in schöner Weise den Satz, dass die Formänderung bei der Wasseraufnahme um so grösser ist, je jünger die Zellen sind.

Nachdem wir die absoluten Dimensionsänderungen in der Querrichtung bei der Wasseraufnahme haben kennen gelernt, wollen wir jetzt unsere Aufmerksamkeit auf die Spannungen richten, welche durch Wasseraufnahme in Querscheiben, resp. in unverletzten Wurzeln entstehen müssen. Die wichtigsten einschlägigen Beobachtungen habe ich in den Figuren 4 *A'*—*D'* dargestellt; diese stellen dieselben in Fig. *A*—*D* abgebildeten Scheiben dar, nachdem sie 15 Minuten in Wasser verweilt hatten. Man sieht bereits auf den ersten Blick, dass die bereits beim Isoliren entstandenen Krümmungen sämmtlich durch Wasseraufnahme verstärkt worden sind, woraus von selbst folgt, dass durch Aufnahme von Wasser die in der Wurzel vorhandenen Spannungen nicht in der Richtung verändert, sondern ausnahmslos verstärkt werden. Die Figuren 4 *A'*—*C'* sind ohne weitere Erklärung verständlich. In Fig. 4 *D* habe ich zwei Fälle abgebildet; in dem einen (*a'*, *b'*) war der peripherische Ring des Holzkörpers nur an einer Stelle durchschnitten; seine beiden Enden schoben sich daher weit übereinander. In dem anderen (*c d d'*) war dieser Ring gleich anfangs in zwei Hälften gespalten; diese krümmten sich so stark, dass ihre Enden sich einander sehr merk-

lich nahten, und dass die centrale Scheibe (*c*) keinen Platz mehr in ihnen finden konnte. Beide Beobachtungen zeigen, dass in diesem Ringe die jüngsten Zellen sich stärker ausdehnen als die etwas älteren inneren. Dieselben Versuche habe ich mit demselben Erfolg bei *Cynara Scolymus* angestellt.

Wenn man den entrindeten Holzkörper durch einen oder zwei parallele Schnitte spaltet, so klaffen die Wunden (§ 3). Durch Aufnahme von Wasser erweitern sich die Wunden dann in kurzer Zeit sehr bedeutend (*Cynara Scolymus, Dipsacus Fullonum*).

Fassen wir das Resultat der in diesem Paragraphen beschriebenen Beobachtungen kurz zusammen, so können wir Folgendes aussagen:

1. Sämmtliche (lebende) Gewebepartien junger Wurzeln verkürzen sich bei der Aufnahme von Wasser in der Längsrichtung, und dehnen sich dabei in der Querrichtung aus.
2. In dicotylen, in die Dicke wachsenden Wurzeln stellen sich die Verkürzung und die quere Ausdehnung um so grösser heraus, je näher das Gewebe der cambialen Zone liegt, je jünger es also ist.
3. Die durch Wasseraufnahme in der Wurzel hervorgerufenen Spannungen sind sowohl in der Längsrichtung als in der Querrichtung gleichsinnig mit den in der normalen Wurzel bereits vorhandenen Gewebespannungen, nur sind sie grösser.

Dieser letztere Satz weist mit Entschiedenheit darauf hin, dass die Gewebespannung in der lebenden Wurzel durch Aufnahme von Wasser verursacht und erhalten wird, und auf denselben Ursachen wie die durch künstlich vermehrte Wasseraufnahme herbeigeführten Spannungen beruht.

Wenn alle lebenden Gewebepartien sich in derselben Weise, wenn auch mit verschiedener Intensität an den Kontraktionserscheinungen betheiligen, so ist es klar, dass wir den Sitz der Kontraktion nicht in solchen Elementarorganen zu suchen haben, welche dem einen oder dem anderen Gewebe eigenthümlich sind, sondern in denjenigen, welche allen gemeinschaftlich sind. Dieser Anforderung entsprechen nun offenbar nur die Parenchymzellen; diese müssen also die bei der Kontraktion in's Spiel tretenden Kräfte liefern. Diese Folgerung stimmt vollständig mit den in § 2 beschriebenen Beobachtungen überein, aus denen hervorgeht, dass die Holzgefässe passiv zusammengedrückt werden. Ob auch die Bastfasern passiv zusammengedrückt werden, lässt sich wohl kaum durch direkte Beobachtung entscheiden; sie sind z. B. beim Klee zwar sehr stark seitlich gebogen, doch könnten diese Biegungen

auch eine einfache Folge des Dickenwachsthums sein. Es muss aber hervorgehoben werden, dass diese Biegungen der Bastfasern in der Wurzel viel ansehnlicher sind, als sie je in dem Baste an Stengeln oder Stämmen beobachtet wurden 1).

Gegenüber diesen Betrachtungen war es von Interesse die Formänderungen der Parenchymzellen bei Wasseraufnahme durch direkte Beobachtung kennen zu lernen, und so die oben aus der Gesammtheit der Beobachtungen abgeleitete Folgerung zu einem empirischen Satze zu erheben. Ich wählte zu diesem Zweck die sich kräftig verkürzenden Hauptwurzeln junger Pflanzen von *Cynara Scolymus*, und stellte aus ihrem Holzkörper feine Längsschnitte von möglichst geringem Umfang dar, um so viel wie möglich die Gefässe auszuschliessen und nur parenchymatische Zellen zu untersuchen. Die Längsschnitte wurden bei starker Vergrösserung zuerst im eigenen, beim Schneiden aus den geöffneten Zellen fliessenden Saft untersucht. Eine leicht kenntliche Gruppe von Zellen wurde mit dem Zeichenprisma genau gezeichnet, dann wurde Wasser zugesetzt, und die Veränderungen studirt, welche die gezeichneten Zellen erlitten. Nach einiger Zeit wurden diese in derselben Weise wieder gezeichnet. Da die Veränderungen sowohl in der Längsrichtung wie in der Querrichtung nur wenige Procente betragen können, so habe ich beide Zeichnungen derart in einander gezeichnet, dass

Fig. 5.

Cynara Scolymus; einige Zellen aus dem Holzkörper der jungen Hauptwurzeln im radialen Längsschnitt. Die ausgezogenen Linien geben die Form der Zellen im eigenen Safte, die unterbrochenen Linien die Form derselben Zellen nach einem Aufenthalte von 10 Minuten im Wasser an.

auf der linken Seite die Zellwände zusammenfallen. Man sieht nun auf den ersten Blick, zumal an den grösseren Zellen der Mitte, dass jede Zelle bei der Aufnahme von Wasser kürzer und breiter wird.

1) de Vries, Wachsthumsgeschichte des rothen Klee's. Landw. Jahrbücher VI. 1877, S. 931.

III. Die Veränderungen der Wurzeln bei der Aufhebung des Turgors.

§ 8. *Einwirkung von Salzlösungen.*

Wenn eine ältere parenchymatische Zelle sich durch Wasseraufnahme vergrössert, so tritt dieses Wasser in den Zellsaft ein und vermehrt dessen Volumen; die Zellhaut und der protoplasmatische Wandbeleg werden dabei passiv ausgedehnt. Da sie in einem gewissen Grade elastisch sind, behalten sie das Bestreben sich wieder zu verkürzen, und üben einen Druck auf den Inhalt aus. Sobald durch irgend eine Ursache dem Inhalte Wasser entzogen wird, folgt die Haut ihrem Bestreben sich zusammenzuziehen und verkürzt sich. Die in der wasserreichen Zelle zwischen Wand und Inhalt bestehende Spannung nennt man den Turgor.

Die kontraktilen Zellen des Wurzelgewebes haben eine dünne Zellhaut und einen sehr dünnen protoplasmatischen Wandbeleg; wenn sie also durch Wasseraufnahme ihre Form ändern, muss das aufgenommene Wasser in den Zellsaft treten, und die Haut dadurch passiv gedehnt werden. Ist die Haut elastisch, so wird sie ihre frühere Form wieder anzunehmen suchen, sobald durch irgend eine Ursache der Zelle Wasser entzogen wird.

Diese Betrachtungen veranlassten mich die Veränderungen zu studiren, welche die Wurzeln erleiden, wenn man in ihren Zellen die Spannungen zwischen Wand und Inhalt aufhebt. Es war zu erwarten, dass diese Erscheinungen genau die entgegengesetzten von der bei der Wasseraufnahme beobachteten sein würden.

Wenn es, wie in dem vorliegenden Falle, nicht darauf ankommt die Grössenänderungen bei der Vernichtung des Turgors absolut und sehr genau zu messen, sondern nur die Natur dieser Veränderungen und ihre relative Grösse studirt werden sollen, so stehen uns verschiedene Wege zur Aufhebung des Turgors zu Diensten. Die wichtigsten sind:

1. Die wasserentziehende Wirkung von Salzlösungen.
2. Der Wasserverlust beim Welken.
3. Die Vernichtung des Turgors durch Tödtung des Protoplasma.

Ich habe diese drei Methoden in meinen „Untersuchungen über die mechanischen Ursachen der Zellstreckung" (Leipzig 1877) einer vergleichenden kritischen Betrachtung unterworfen und gezeigt, dass die zuerst genannte in jeder Hinsicht die zuverlässigsten Resultate giebt, dass die beiden anderen aber in manchen Fällen, zu-

mal als Kontrolle, Beachtung verdienen. Die erstere Methode bietet den Vortheil, dass der Turgor rasch und vollständig aufgehoben wird, ohne dass die Zellen getödtet werden, und dass die gemessenen Dimensionsänderungen nur auf der Aufhebung des Turgors, nicht auf etwaigen weiteren Wasserverlust beruhen. Bei der zweiten Methode lässt sich nie die Grenze angeben, bei der der Turgor grade verschwunden ist, da der Wasserverlust auch nach Aufhebung des Turgors stetig fortschreitet. Bei der dritten Methode endlich ist zwar die Einwirkung fremder Stoffe ausgeschlossen, jedoch eine Aenderung der Zellhäute durch den Tod der Gewebe immerhin möglich. Dazu kommt, dass hier die Formänderungen sehr langsam vor sich gehen, die Versuche also stets sehr lange dauern müssen.

Die Versuche, welche ich nach der ersteren Methode mit Wurzeln angestellt habe, sollen in diesem Paragraphen, die nach den beiden anderen in den folgenden Paragraphen beschrieben werden.

Bevor ich zu der Mittheilung der Versuche übergehe, wird es zweckmässig sein, die Methode kurz zu beschreiben, und die wichtigsten Thatsachen, auf die sich ihre Berechtigung stützt, vorzuführen. Ich beziehe mich hierbei völlig auf die in der oben citirten Schrift bewiesenen Thatsachen und Folgerungen.

Wenn man auf eine tugescente Zelle, etwa aus dem Mark eines raschwachsenden Blüthenstieles eine zehnprozentige Kochsalzlösung einwirken lässt, so entzieht letztere der Zelle Wasser und diese verringert dadurch ihr Volumen. Cylindrische Zellen pflegen sich dabei in der Richtung der Längsachse zu verkürzen; diese Verkürzung erreicht nicht selten 10—15 pCt. der anfänglichen Länge. Nach einiger Zeit aber hört die Verkürzung auf, und wenn jetzt die Einwirkung des Salzes fortdauert, so sieht man, dass sich das Protoplasma an einzelnen Stellen von der Zellhaut abhebt, und in seiner Form mehr und mehr der Kugel nähert, indem der von ihm umschlossene Raum kleiner und kleiner wird. Dabei füllt sich der neu entstehende Raum zwischen dem Protoplasma und der Haut mit der Salzlösung. Diesen Vorgang der Salzlösung nenne ich die Plasmolyse, sobald er angefangen hat ist jede Spannung zwischen dem vom Plasma umschlossenen Zellsaft und der Zellhaut selbstverständlich ausgeschlossen. Dem entsprechend fängt die Abhebung erst an, nachdem die vorher dagewesene Spannung völlig verschwunden ist, und verkürzt sich, wie vielfache Messungen lehrten, die Zelle im plasmolytischen Zustande nicht mehr.

Bringt man nun die plasmolytische Zelle in Wasser, so diffundirt das durch die Haut eingedrungene Salz wieder heraus; der Zellsaft

kann also wieder Wasser an sich ziehen und sich vergrössern. Dabei dehnt er das ihn umkleidende Protoplasma fortwährend aus, und drückt dieses endlich wieder gegen die Zellhaut, zunächst, an einzelnen Stellen, später überall. Damit ist die Plasmolyse aufgehoben, und sind Spannungen zwischen Wand und Zellsaft wieder möglich geworden. Kann die Zelle also mehr Wasser aufnehmen, so wird sie dabei ihr ganzes Volumen vergrössern und die Zellhaut ausdehnen.

Die beschriebenen Operationen sind für einzelne Zellen und für ganze Pflanzentheile nicht tödlich, wenn die Zellen nur nicht stundenlang in dem plasmolytischen Zustande verharren. Ist dies der Fall, so stirbt das durch die eingedrungene Salzlösung von der Berührung mit der Luft abgeschlossene Protoplasma allmählich ab indem es zuerst das Vermögen verliert, um das Auswaschen ohne Schaden zu ertragen. Nach längerem Aufenthalt in der Salzlösung findet man es todt in den Zellen liegen. Entfernt man aber die Salzlösung nach 1—2 Stunden, und sorgt man dafür, dass etwaige Injectionen der intercellularen Lufträume wieder aufgehoben werden, so bleibt der Pflanzentheil am Leben.

Die Verkürzung wachsender Sprosse bei der Einwirkung von Salzlösungen beruht (so weit sie messbar ist) ausschliesslich auf der Aufhebung des Turgors, nicht auf etwaigen Verkleinerungen des Zellvolumens durch osmotische Vorgänge oder auf einer Verkürzung der Zellhäute durch Imbibition mit der Salzlösung. Für die Beweise dieser beiden, auch für das Studium der Wurzelkontraktion sehr wichtigen Sätze, verweise ich auf meine oben citirte Arbeit. Ich habe mich durch einige Vorversuche davon überzeugt, dass diese Sätze auch für die kontraktilen Wurzeln ihre volle Berechtigung behalten.

Wenn eine Zelle durch ihren Turgor ausgedehnt ist, so hat man an ihr zwei verschiedene Längen zu unterscheiden. Erstens diejenige, welche sie faktisch hat; zweitens jene, welche sie haben würde, wenn sie nicht durch den Turgor ausgedehnt wäre. Ich möchte die erstere die faktische Länge, die letztere aber die wahre Länge nennen. Die Differenz beider ist die Turgorausdehnung. Um die wahre Länge messen zu können muss man die Zelle offenbar in den plasmolytischen Zustand versetzen.

Die Häute wachsender Zellen sind nur sehr unvollkommen elastisch; werden sie durch den Turgor ausgedehnt, so findet gleichzeitig eine bleibende und eine elastische Verlängerung statt. Es leuchtet ein, dass bei nachheriger Aufhebung des Turgors die Zelle sich nur um so viel verkürzt, als der elastischen Verlängerung ent-

spricht. Die mittelst der plasmolytischen Methode bestimmte Turgorausdehnung ist also die elastische Ausdehnung, die bleibende Verlängerung durch Turgor kann durch einmalige Plasmolyse nicht bestimmt werden.

Wir werden diese Betrachtungen bei der Verwerthung der an Wurzeln gewonnenen Resultate mehrfach brauchen, und gehen jetzt zu der Beschreibung der Versuche über.

In erster Linie führe ich einige Versuche an, welche ich anstellte um zu erfahren, in wiefern die durch Wasseraufnahme verursachte Verkürzung durch die Einwirkung von Salzlösungen wieder aufgehoben würde.

I. *Hauptwurzeln von Dipsacus Fullonum*, von 3 Monate alten 8- bis 10 blättrigen Pflanzen, ohne Blätter in einer flachen Glasschale untersucht. Die Wurzeln wurden zuerst in Wasser gelegt. Die Entfernung der Marken betrug:

	I.	II.	III.
Beim Anfang	80,0 mm,	90,0 mm,	90,0 mm,
Nach 3 Stunden	79,0 „	89,1 „	88,4 „
Nach 5 Stunden	78,8 „	89,1 „	88,3 „
Nach 3 mal 24 Stunden .	78,2 „	87,9 „	87,6 „

Jetzt wurden die Wurzeln abgetrocknet und mit einer concentrirten Lösung von Kalisalpeter in einer flachen Glasschale übergossen. Die Länge betrug hier

	I.	II.	III.
Nach 2 Stunden	80,0 mm,	90,0 mm,	89,3 mm,
Nach 28 Stunden . . .	80,4 „	90,3 „	89,8 „
Nach 2 mal 24 Stunden .	80,6 „	90,3 „	89,8 „

	I.	II.	III.
Totale Verkürzung in Wasser	1,8 mm,	2,1 mm,	2,4 mm,
Totale Verlängerung in KNO_3	2,4 „	2,4 „	2,2 „

Die Wurzeln dehnten sich in der Salzlösung also wieder aus, und zwar No. I und II etwas mehr als sie sich vorher in Wasser verkürzt hatten.

Die im Wasser ziemlich steifen Wurzeln waren in der Salzlösung schlaff.

II. *Hauptwurzeln von Cynara Scolymus*; von diesjährigen 6- bis 8 blättrigen Pflanzen, ohne Blätter in einer flachen Glasschale zuerst in Wasser, nachher in concentrirter Kalisalpeterlösung untersucht. Die Entfernung der Marken betrug

	I.	II.	III.
Beim Anfang	100,0 mm,	100,0 mm,	80,0 mm,
Nach drei Stunden . .	98,9 „	99,0 „	79,5 „
Nach fünf Stunden . .	98,3 „	98,6 „	79,1 „
Nach 2 mal 24 Stunden	96,2 „	96,5 „	78,2 „

Jetzt wurden die Wurzeln in die Sälzlösung gebracht, die Entfernung der Marken war hier

	I.	II.	III.
Nach 2 Stunden	99,0 mm,	99,2 mm,	79,6 mm,
Nach 28 Stunden . . .	99,0 „	99,2 „	79,7 „
Nach 3 mal 24 Stunden .	99,0 „	99,2 „	79,8 „

	I.	II.	III.
Totale Verkürzung in Wasser .	3,8 mm,	3,5 mm,	1,8 mm,
Totale Verlängerung in KNO_3 .	2,8 „	2,7 „	1,6 „

Die Wurzeln dehnten sich in der Salzlösung also wieder aus, aber nicht so viel, wie sie sich vorher in Wasser verkürzt hatten, sie erreichten die ursprüngliche Länge nicht wieder.

Nach zwei Stunden war in der Salzlösung ihre Länge nahezu konstant geworden.

III. *Hauptwurzeln von Cynara Scolymus.* Wurzeln von demselben Alter wie die zu dem vorigen Versuche benutzten wurden markirt und nach dreitägigem Aufenthalt in Wasser in eine concentrirte Lösung von Kalisalpeter gebracht, wo sie sich allmählich wieder verlängerten, dabei aber immer mehr erschlafften.

	I.	II.	II.
Länge beim Anfang	100,0 mm,	100,0 mm,	80,0 mm,
Länge nach drei Tagen in Wasser . .	95,0 „	96,1 „	96,0 „
Länge nach 2 Stunden in der Salzlösung .	98,6 „	97,4 „	98,8 „
Nach 28 Stunden	79,2 „	98,0 „	99,2 „
Nach 2 mal 24 Stunden	99,2 „	98,0 „	99,2 „

	I.	II.	III.
Verkürzung in Wasser	5,0 mm,	3,9 mm,	4,0 mm,
Verlängerung in KNO_3	4,2 „	1,9 „	3,2 „

Die Wurzeln verlängerten sich in der Salzlösung also bedeutend, aber nicht bis zur ursprünglichen Länge.

Fasst man die Resultate dieser drei Versuche zusammen, so ergiebt sich:

1. Die Wurzeln erschlaffen in der Salzlösung.
2. Die Wurzeln dehnen sich in der Salzlösung aus, und erreichen dabei nach wenigen Stunden eine konstante Länge, welche also dem turgorlosen Zustande entspricht.

3. Die Verlängerung in der Salzlösung ist meist geringer als die vorherige Verkürzung im Wasser.

Aus diesen Sätzen lässt sich weiter folgern:

4. Die Verkürzung der Wurzeln durch Wasseraufnahme beruht auf einer Erhöhung des Turgors.
5. Die dabei stattfindende Verkürzung der Zellhäute besteht aus einem bleibenden und einem elastischen Theil.

Ferner habe ich eine Reihe von Versuchen mit dem entrindeten Holzkörper mit dessen einzelnen Theilen gemacht.

IV. *Entrindete Holzkörper von Dipsacus fullonum*, von jungen mehrblättrigen Pflanzen; Holzkörper im oberen Theil 2—4 mm dick. Sie wurden erst in einer flachen Schale in Wasser, nachher in concentrirter Kalisalpeterlösung untersucht. Die Entfernung der Marken betrug in den drei Exemplaren:

	I.	II.	III.
Beim Anfang.	50,0 mm,	50,0 mm,	40,0 mm,
Nach 48 Stunden in Wasser	49,3 „	49,2 „	39,5 „
Nach 9 Stunden in der Salzlösung .	50,4 „	50,1 „	40,2 „
Verkürzung im Wasser	0,7 „	0,8 „	0,5 „
Verlängerung in der Salzlösung . . .	1,1 „	0,9 „	0,7 „

Die Verlängerung in der Salzlösung war in diesen drei Holzkörpern grösser als die vorherige Verkürzung in Wasser.

V. *Entrindete Holzkörper von Dipsacus Fullonum.* Die Holzkörper, von ähnlichen Pflanzen, wie die des vorigen Versuchs stammend, wurden, ohne mit Wasser in Berührung gebracht zu sein, sofort in die Salzlösung (concentrirte Salpeterlösung) gebracht. Die Entfernung der Marken betrug in vier Exemplaren:

	I.	II.	III.	IV.
Beim Anfang.	60,0 mm,	60,0 mm,	60,0 mm,	60,0 mm,
Nach 2 Stunden	61,0 „	61,0 „	61,2 „	61,0 „
Nach 24 Stunden	61,0 „	61,0 „	— „	— „
Verlängerung	1,0 „	1,0 „	1,2 „	1,0 „

Das frische Gewebe verlängert sich beim Aufheben des Turgors durch Salzlösung; es erreicht dabei nach zwei Stunden eine konstante Länge.

Die Holzkörper Nr. III und IV wurden nach zweistündigem Aufenthalt in der Salzlösung in Wasser geworfen, hier verkürzten sie sich in einer Stunde um 0,4 resp. 0,3 mm, verlängerten sich dann aber in 24 Stunden wieder auf dieselbe Länge, welche sie in der Salzlösung hatten (61,2 resp. 61,0 mm). Beim Auswaschen des Salzes

erhielten also eine Anzahl von Zellen wieder ihren Turgor, verloren ihn aber später wieder als sie bei längerem Aufenthalt in Wasser abstarben. Die Länge des plasmolytischen Holzkörpers in der concentrirten Salzlösung war dieselbe, wie die des todten Holzkörpers im Wasser. In beiden Fällen hatte des Gewebe also die „wahre Länge" im oben (S. 64) entwickelten Sinne.

VI. *Verbacum Thapsus, entrindete Holzkörper.* Junge Pflanzen mit 8—12 Blättern; der Holzkörper wurde aus der Hauptwurzel genommen, markirt und ohne Berührung mit Wasser erst in eine 5 procentige, dann in eine 20 procentige Kalisalpeterlösung gebracht. Die Entfernung der Marken war:

	I.	II.
Beim Anfang	100,0 mm,	100,0 mm,
Nach zehn Stunden in 5 procentiger Lösung	100,7 „	100,2 „
Nach zehn Stunden in 20 procentiger Lösung	100,7 „	100,3 „

Die frischen Holzkörper erlitten also in der Salzlösung eine Verlängerung, welche in 5 procentiger und in 20 procentiger Salpeterlösung gleich stark war. Beide Lösungen heben also den Turgor völlig auf, und nach dessen Aufhebung hat eine weitere Steigerung der Concentration des Salzes keinen weiteren Einfluss auf die Länge des Holzkörpers.

VII. *Cynara Scolymus*; Trennung der peripherischen und centralen Theile des Holzkörpers. Die der Länge nach in vier peripherische und einen centralen Streifen getheilten Holzkörper, deren Verkürzung in Wasser in § 7S. 55, beschrieben wurde, wurden am Ende jenes Versuches in 20 procentige Kochsalzlösung gebracht, und hier erst nach 2, dann nach 24 Stunden gemessen. Die für die Peripherie angegebenen Zahlen sind Mittelzahlen aus je vier Streifen.

	I.		II.	
	Peripherie.	Centrum.	Peripherie.	Centrum.
Nach dem Isoliren	69,3 mm,	72,0 mm,	45,9 mm,	45,0 mm,
Nach 20 Stunden in Wasser	64,4 „	70,0 „	43,5 „	47,5 „
Nach 2 Stunden in Salzlösung	66,5 „	72,8 „	45,2 „	49,0 „
Nach 24 Stunden in Salzlösung	66,9 „	72,8 „	45,2 „	49,2 „
Verkürzung in Wasser	4,9 „	2,0 „	2,4 „	0,5 „
Verlängerung in der Salzlösung.	2,5 „	2,8 „	1,7 „	1,7 „

Sowohl das Centrum als die Peripherie verlängerten sich in der Salzlösung; die Peripherie weniger, das Centrum aber mehr als die vorherige Verkürzung in Wasser betrug.

Diese Versuche ergeben also

1. Das frische Wurzelgewebe verlängert sich unter der Einwirkung von Salzlösungen; es erreicht dabei in wenigen Stunden den erschlafften turgorlosen Zustand.
2. Isolirte Holzkörper, oder einzelne Längstheile von diesen verlängern sich in der Salzlösung, wenn sie sich vorher in Wasser verkürzt haben. Die Verlängerung ist häufig grösser als die vorherige Verkürzung.

Aus Versuch VII haben wir gesehen, dass nach Vernichtung des Turgors die peripherischen Streifen eine bedeutend geringere Länge haben als die Achse. Hieraus folgt, dass auch im turgorlosen Zustande in dem Holzkörper noch eine Gewebespannung, und zwar in demselben Sinne wie in der turgescenten Wurzel bestehen muss. Ich isolirte daher aus mehreren Wurzeln von *Cynara Scolymus* und *Dipsacus Fullonum*, welche 24 Stunden oder länger in starker Salzlösung verweilt hatten, den Holzkörper und spaltete ihn durch einen Kreuzschnitt in vier gleiche Theile: sofort klafften die freien Enden auseinander. Spaltete ich den isolirten Holzkörper an frischen Wurzeln derselben Arten in derselben Weise und liess die entstehenden Krümmungen in Wasser recht stark werden, so konnte ich bei nachheriger Einwirkung von Salzlösung ein Zurückgehen der gekrümmten Streifen nicht mit Sicherheit beobachten.

Dünne axile Längsstreifen des Holzkörpers von *Cynara Scolymus* und *Dipsacus Fullonum* wurden auf Glasplatten gelegt und einige durch zwei, andere durch drei Längsschnitte in gleiche Theile zerlegt. In Folge der Gewebespannung krümmten sich diese. Durch 20 procentige Kochsalzlösung wurden diese Krümmungen nicht wesentlich verringert, auch nicht, wenn sie vorher durch Wasseraufnahme bedeutend verstärkt waren.

Wenn man Querscheiben aus dem isolirten Holzkörper der Hauptwurzel von *Cynara Scolymus* oder *Dipsacus Fullonum*, nachdem sie in 2 Hälften oder drei annähernd gleiche Theile zerschnitten sind, in 20 procentige Kochsalzlösung bringt, so verschwindet nach kurzer Zeit die beim Isoliren entstandene Krümmung der Schnittränder; diese werden grade. Lässt man Scheiben, welche in ähnlicher Weise vorbereitet sind, zuerst Wasser aufnehmen und bringt sie dann in die Kochsalzlösung, so verschwindet die Krümmung der Schnittränder nicht wieder vollständig. In letzterem Falle bestand also die Ausdehnung durch Wasseraufnahme wieder aus einem elastischen und einem bleibenden Theil.

§ 9. *Die Folgen des Wasserverlustes beim Welken.*

Es ist allgemein bekannt, dass wachsende Theile, wenn sie durch Welken erschlaffen, kürzer werden. Direkte Messungen liegen sowo für Wurzeln1) aus auch für Stengel2) vor. Eine Ausnahme von dieser Regel ist bis jetzt nicht bekannt geworden, und der gewöhnlichen Auffassung entsprechend, nach der der Turgor die Zellen in der Längsrichtung ausdehnt, auch nicht zu erwarten.

Da nun aber die contractilen Wurzeln durch den Turgor verkürzt werden, so müssen sie sich offenbar auch beim Welken grade umgekehrt verhalten wie wachsende Wurzelspitzen und Stengeltheile. Sie müssen wohl erschlaffen, dabei aber länger werden.

Es war von Interesse die Richtigkeit dieser Folgerung durch einen Versuch zu bestätigen. Dabei war aber zu berücksichtigen, dass nach den Auseinandersetzungen in meinen „Untersuchungen über die mechanischen Ursachen der Zellstreckung" S. 374—377, die Längenänderung welkender Organe nicht ausschliesslich auf dem Verschwinden des Turgors beruht. Denn auch nachdem der turgorlose Zustand erreicht worden ist, geht in jungen welkenden Stengeln die Verkürzung noch weiter, und zwar so bedeutend, dass die totale Verkürzung beim Austrocknen über das 2—3 fache des Werthes der Turgorausdehnung erreichen kann. Wenden wir diese Erfahrung auf unsere Wurzeln an, so sehen wir, dass sobald in ihnen der Turgor verschwunden sein wird, und dadurch das Gewebe das Maximum der möglichen Ausdehnung erreicht haben wird, nun der Wasserverlust durch Verdunstung fortschreiten wird, aber nicht eine weitere Verlängerung, sondern eine Verkürzung verursachen wird. Da es nun gar nicht vorherzusehen ist, nach wie langer Zeit die Wurzeln den turgorlosen Zustand erreichen werden, so ist es erforderlich, sie in kurzen Zeitintervallen zu messen. Endlich ist die Möglichkeit zu berücksichtigen, dass in verschiedenen Zonen der Turgor zu ungleichen Zeiten verschwinden wird; es werden dann einzelne Strecken sich bereits verkürzen, während andere sich noch verlängern, und die gewonnene Verlängerung wird also relativ zu gering ausfallen. Da es uns aber nur auf die Feststellung der Thatsache der Verkürzung und nicht auf die Messung von deren absoluter Grösse ankommt, so brauchen wir diese Fehlerquelle nicht weiter zu berücksichtigen.

---

1) Sachs, Ueber das Wachsthum der Haupt- und Nebenwurzeln; Arb. d. Bot. Instit. in Würzburg. III. 1873. S. 396.

2) de Vries, Ueber die Dehnbarkeit wachsender Sprosse. Opera collata. I p. 271.

Junge 4—6blättrige Pflanzen von *Cynara Scolymus* wurden aus dem Boden genommen, die Wurzeln rasch in Wasser gewaschen und gut abgetrocknet, dann die Marken aufgetragen und nun die Pflanzen so am Fenster hingelegt, dass die Blätter von der Sonne beschienen wurden, die Wurzeln aber im Schatten lagen; letztere wurden auch noch mit Papier überdeckt. Sehr bald fingen die Blätter an zu welken und auch die Wurzeln erschlafften allmälig. Ich beobachtete an zwei Exemplaren folgende Längen:

	I.	II.
Beim Anfang. . . .	100,0 mm,	100,0 mm,
Nach ½ Stunde . .	100,0 „	100,1 „
Nach 1 Stunde . . .	100,2 „	100,4 „
Nach 1½ Stunde . .	100,3 „	100,4 „
Nach 2 Stunden . .	100,6 „	100,7 „
Verlängerung . . .	0,6 „	0,7 „

Die Wurzeln waren jetzt ganz schlaff; als der Versuch noch weiter fortgesetzt wurde, fingen sie an sich zu verkürzen. Dann wurden sie in Wasser gebracht, nachdem die Blätter abgeschnitten waren. Hier wurden sie bald wieder steif, und verkürzten sich in einigen Tagen um 4—5 mm.

Die contractilen Wurzeln verlängern sich also beim Welken, nur darf dieses nicht zu lange dauern.

§ 10. *Die Veränderungen der Wurzeln beim Tode.*

Gelegentlich einer Untersuchung über die Permeabilität des Protoplasma rother Rüben[1]) habe ich gezeigt, dass der Widerstand, den das Protoplasma dem Durchgange vieler gelösten Stoffe entgegensetzt, eine wesentliche Bedingung für das Zustandekommen des Turgors ist. Tödtet man das Protoplasma, so verliert es bekanntlich seinen Filtrationswiderstand, und da die Zellhaut für die betreffenden Stoffe auch im lebenden Zustand leicht permeabel ist, so muss beim Tode des Protoplasma der Turgor aufhören. Junge wachsende Sprosse werden sich also, wenn sie durch irgend eine Ursache getödtet werden, verkürzen, und die Grösse dieser Verkürzung kann als ein Maass für ihre vorherige Turgorausdehnung benutzt werden.[2]) Kommt es darauf an, diese Grösse sehr genau und mit völliger Gewissheit zu bestimmen, so sind allerdings gewisse Bedenken zu berücksichtigen, welche, wie

1) de Vries, Sur la perméabilité du protoplasma des betteraves rouges, Opera collata. I. p. 86.

2) de Vries, Ursachen der Zellstreckung. Opera collata. I p. 357.

ich a. a. O. zeigte, dieser Methode einen geringeren Werth zuerkennen lassen, als der in § 8 benutzten plasmolytischen Methode. Aber für unseren Zweck ist sie völlig ausreichend, da wir eben nur die Natur der Dimensionsänderungen in kontraktilen Wurzeln beim Sterben kennen lernen wollen.

Denn nach den in den beiden vorigen Paragraphen mitgetheilten Erfahrungen ist es von vornherein fast sicher, dass die kontraktilen Wurzeln sich beim Tode verlängern werden. Die durch den Turgor in querer Richtung gedehnten, in der Längsrichtung verkürzten Zellhäute werden, sobald durch den Tod des Protoplasma dem Zellinhalte das Austreten in die intercellularen Räume ermöglicht wird, elastisch ihre Form ändern, das Volumen der Zellen unter Auspressen des Zellsaftes verkleinern, und dabei die Zellen schmaler und länger machen.

Die Erfahrung bestätigt diese Folgerung. Ich habe diese Versuche in ziemlicher Zahl durchgeführt, weil bei der völligen Uebereinstimmung ihrer Resultate mit den bisher mitgetheilten Erfahrungen, manche kleinere Bedenken, welche vielleicht noch gegen die Richtigkeit meiner Folgerungen auftauchen könnten, völlig beseitigt werden. Es handelt sich also in diesem Paragraphen nicht so sehr um die Feststellung neuer, als um die Bestätigung bereits gewonnener Resultate. Dabei schien es von Interesse, die Ursachen des Todes möglichst zu variiren.

I.

Cynara Scolymus, durch Kochen getödtet.

Hauptwurzeln von kräftigen diesjährigen Pflanzen wurden von den Blättern und den Nebenwurzeln befreit, und während fünf Tagen in Wasser in flachen Glasschalen aufbewahrt. Dann wurden sie 10 Minuten lang in kochendem Wasser gehalten und jetzt wieder in das kalte Wasser zurückgebracht. Die Entfernung der Marken betrug bei zwei Exemplaren:

	I.	II.
Beim Anfang	80,0 mm,	50,0 mm,
Nach fünftägigem Aufenthalt in Wasser	77,4 „	49,0 „
Nach zehn Minuten in Wasser von 100° C.	77,6 „	49,4 „
Nach 24 Stunden in Wasser	78,0 „	49,9 „
Nach weiteren 24 Stunden	78,2 „	— „
Verkürzung im Wasser	2,6 „	1,0 „
Verlängerung beim Tode	0,8 „	0,6 „

Die Wurzeln verlängerten sich also beim Tode.

II.

Hyacinthus orientalis, in Wasser liegend gestorben.

Wurzeln einer auf Wasser kultivirten Zwiebel wurden im Februar 1879 abgeschnitten, markirt und in einer flachen Glasschale mit wenig Wasser bei 20—25° C. wochenlang aufbewahrt. Ich maass folgende Längen.

	I.	II.	III.	IV.
Beim Anfang am 4. Februar .	50,0 mm,	50,0 mm,	30,0 mm,	30,0 mm,
Am 10. Februar	47,8 „	47,7 „	28,1 „	29,0 „
Am 27. Februar	49,0 „	47,7 „	28,1 „	29,0 „
Am 21. März	49,0 „	48,0 „	30,0 „	30,0 „
Verkürzung	2,2 „	2,3 „	1,9 „	1,0 „
Verlängerung	1,2 „	0,3 „	1,9 „	1,0 „

Bei der sehr langen Dauer des Versuches starben die Wurzeln endlich, wie an der Injection der Lufträume und der Erschlaffung deutlich zu sehen war, No. I. bereits vor dem 27. Februar, die drei anderen später. Sie verlängerten sich dabei.

III.

Eine Reihe jener Wurzeln, deren Verkürzung in Wasser in § 5 behandelt worden ist, wurden nachdem jene Versuche beendigt waren, noch einige Zeit aufbewahrt. Es sind diejenigen, welche statt in flache Glasschalen, in Cylindergläser mit Wasser gestellt worden waren. Hier hatte die Luft, obgleich die Gläser offen waren, offenbar keinen hinreichenden Zutritt zu den Wurzeln, und es war also zu erwarten, dass diese nach wenigen Tagen absterben würden. Dem entsprechend zeigten sie meist ausschlieslich an dem ersten Tage eine Verkürzung, nachher verlängerten sie sich aber wieder. Ich gebe die beobachteten Zahlen ohne nähere Erklärung, indem ich für die Beschreibung der Versuche auf das in § 5 Mitgetheilte verweise.

III. A.

Calendula officinalis.

	I.	II.	III.
Länge beim Anfang.	100,0 mm,	100,0 mm,	150,0 mm,
Länge nach 24 Stunden	96,6 „	99,7 „	109,4 „
Länge nach 2 mal 24 Stunden . .	100,2 „	99,8 „	150,4 „
Länge nach 5 Tagen	100,3 „	100,0 „	150,7 „
Verlängerung	0,7 „	0,3 „	1,3 „

III. B.

Verbascum Thapsus.

	I.	II.	III.
Länge beim Anfang	100,0 mm,	100,0 mm,	70,0 mm,
Länge nach 24 Stunden	99,3 „	99,4 „	68,8 „
Länge nach 2 mal 24 Stunden . . .	99,3 „	99,6 „	69,2 „
Länge nach 5 Tagen	100,0 „	100,2 „	69,7 „
Verlängerung	0,7 „	0,8 „	0,9 „

III. C.

Malva rotundifolia.

	I.	II.
Länge beim Anfang	100,0 mm,	70,0 mm,
Länge nach 24 Stunden	99,5 „	69,6 „
Länge nach 2 mal 24 Stunden . .	99,5 „	70,1 „
Länge nach 5 Tagen	100,0 „	— „
Verlängerung	0,5 „	0,5 „

III. D.

Plantago lanceolata.

Länge beim Anfang	80,0 mm,
Länge nach 24 Stunden	79,4 „
Länge nach 2 mal 24 Stunden . .	79,5 „
Länge nach 5 Tagen	79,6 „
Verkürzung	0,2 „

III. E.

Papaver somniferum.

	I.	II.
Länge beim Anfang	50 mm,	40,0 mm,
Länge nach 24 Stunden . . .	49,7 „	39,7 „
Länge nach 2 mal 24 Stunden .	50,2 „	39,5 „
Länge nach 5 Tagen	51,0 „	40,1 „
Verlängerung	1,3 „	0,4 „

Man sieht, dass die Wurzeln sich stets beim Sterben verlängern, und dass diese Verlängerungen in denselben Grenzen spielen, wie die durch Salzlösungen bewirkten Ausdehnungen (§ 8).

IV.

Einige weitere Versuche habe ich mit entrindeten Holzkörpern aus den Hauptwurzeln junger 8—12blättriger Pflanzen von *Dipsacus Fullonum* und *Verbascum Thapsus* gemacht. Die Holzkörper

wurden durch möglichst verschiedene Mittel getödtet, um zu sehen, ob das Resultat stets dasselbe sei. Die Zahlen werden wohl ohne weitere Erklärung verständlich sein.

IV. A.

Dipsacus Fullonum.

Durch halbstündiges Kochen getödtet.

	I.	II.	II.
Dicke des Holzkörpers	4 mm,	3 mm,	2 mm,
Länge beim Anfang	50,0 „	50,0 „	50,0 „
Nach dem Kochen	51,0 „	50,8 „	50,5 „
Nach 20 Stunden in Wasser . .	51,0 „	50,8 „	50,6 „
Nach 2 mal 2 Stunden in Wasser .	51,2 „	50,7 „	50,7 „
Verlängerung	1,2 „	0,7 „	0,7 „

IV. B.

Verbascum Thapsus.

In concentrirter wässeriger Salicylsäure aufbewahrt.

	I.	II.	III.
Dicke des Holzkörpers	2 mm,	2 mm,	2 mm,
Länge beim Anfang	100,0 „	60,0 „	80,0 „
Nach 24 Stunden	100,1 „	60,4 „	70,3 „
Nach 4 mal 24 Stunden	100,3 „	60,5 „	70,5 „
Verlängerung	0,3 „	0,5 „	0,5 „

IV. C.

Verbascum Thapsus.

In verdünnter wässeriger Jodlösung aufbewahrt.

	I.	II.	II.
Dicke des Holzkörpers	3 mm,	2 mm,	2 mm,
Länge beim Anfang	50,0 „	40,0 „	50,0 „
Nach 4 Tagen.	50,6 „	40,2 „	50,3 „
Zunahme	0,6 „	0,2 „	0,3 „

IV. D.

Verbascum Thapsus.

In ausgekochtem Wasser in verschlossener Röhre aufbewahrt.

	I.	II.
Länge beim Anfang .	100,0 mm,	100,0 mm,
Nach 2 Tagen . . .	100,1 „	100,2 „
Nach 4 Tagen . . .	100,3 „	100,4 „
Zunahme	0,3 „	0,4 „

In allen Versuchen sieht man eine deutliche Zunahme der Länge.

V.

Eine letzte Reihe von Beobachtungen habe ich über das Absterben dünner Querschnitte aus kontraktilen Wurzeln beim Liegen in Wasser gemacht. Es zeigte sich allgemein, dass die Schnitte, deren Ausdehnung in der Querrichtung durch Wasseraufnahme in § 7 studirt wurde, bei längerem Aufenthalt im Wassertropfen auf dem Objektglase sich in querer Richtung wieder zusammenzogen. Es war dieses Resultat zu erwarten, denn die Ausdehnung beruht auf einer Erhöhung des Turgors, und die dünnen Scheiben mussten nach kürzerer oder längerer Zeit absterben und also ihren Turgor verlieren. Ich theile beispielsweise einige an *Cynara Scolymus* gewonnene Zahlen mit.

Aus zwei Querscheiben durch den isolirten Holzkörper wurden durch je zwei parallele Schnitte eine Mittellamelle isolirt, und bei 22facher Vergrösserung gemessen. Ich fand bei Nr. I:

	Cambium.	Mitte.	Cambium.
Breite beim Anfang	84 mm,	82 mm,	89 mm,
Nach 2¾ Stunden	103 „	89 „	110 „
Nach 24 Stunden	192 „	83 „	110 „
Zunahme an Breite	19 „	7 „	21 „
Abnahme an Breite	1 „	6 „	0 „

Bei der zweiten Scheibe:

	Cambium.	Mitte.	Cambium.
Breite beim Anfang	83 mm,	83 mm,	83 mm,
Nach 2¾ Stunden	105 „	90 „	110 „
Nach 24 Stunden	105 „	86 „	105 „
Zunahme an Breite	22 „	7 „	27 „
Abnahme an Breite	0 „	4 „	5 „

Aus einer Querscheibe durch die ganze Wurzel in derselben Weise eine Mittellamelle genommen und gemessen.

	Rinde.	Cambium.	Mitte.	Cambium.	Rinde.
Breite beim Anfang	33 mm,	34 mm,	35 mm,	35 mm,	32 mm,
Nach 6 Minuten in Wasser .	39 „	42 „	38 „	40 „	36 „
Nach 20 Stunden	34 „	38 „	35 „	40 „	35 „
Zunahme an Breite	6 „	8 „	4 „	5 „	5 „
Abnahme von Breite . . .	5 „	4 „	3 „	0 „	1 „

Die Zahlen zeigen, dass beim Absterben alle einzelnen Gewebepartien sich in querer Richtung zusammenziehen. Dass die Abnahme der Breite sehr ungleichmässig und oft sehr klein war, hat offenbar darin seinen Grund, dass die verschiedenen Theile ungleich lange am Leben blieben.

Fassen wir das Resultat aus allen Versuchen zusammen, so sehen wir

1. Die ganzen Wurzeln und die isolirten Holzkörper dehnen sich beim Tode der Länge nach aus, unabhängig von der Art und Weise, wie der Tod herbeigeführt wird. Dieses gilt sowohl für frische, als für vorher in Wasser aufbewahrte Wurzeln.
2. Sämmtliche Gewebepartien ziehen sich beim Tode in der queren Richtung zusammen.
3. Die Dimensionsveränderungen beim Tode sind also dieselben wie beim Turgorverlust in Salzlösungen, und den durch Wasseraufnahme in den frischen Wurzeln verursachten genau entgegengesetzt.

IV. Theorie der Kontraktion.

§ 11. *Zusammenfassung der empirischen Resultate.*

Für eine klare Einsicht in die Kontraktionsvorgänge ist es durchaus erforderlich, zwei Gruppen von Erscheinungen scharf auseinander zu halten. Die allmälige Kontraktion der im Freien wachsenden Wurzeln ist ein ganz anderer Prozess, als die raschen Kontraktionen, welche die Wurzeln oder deren einzelne Theile bei der Aufnahme von Wasser erfahren. Die allmälige Kontraktion ist ein nicht umkehrbarer Vorgang, die durch Wasseraufnahme bedingte Kontraktion lässt sich durch Wasserentziehung, wenigstens zum grossen Theile, wieder rückgängig machen.

Die allmälige Kontraktion muss als eine Wachsthumserscheinung betrachtet werden; die rasche Kontraktion beruht auf eine Aenderung des Turgors. Es ist anzunehmen, dass letztere eine der Ursachen der ersteren ist.

Meine Untersuchungen hatten zum Zweck, zu erforschen, welche Gewebe und welche Zellen den Sitz der Kontraktionserscheinungen bilden, und in welcher Weise diese Kontraktion bewirkt werde. Die Antwort auf diese im Anfang gestellte Frage lautet:

1. Das Parenchym, sowohl des Holzkörpers als der Rinde, bildet den Sitz der Kontraktion; diese findet durch Wasseraufnahme statt, indem die Parenchymzellen sich verbreiten und verkürzen; dabei erhöhen sie ihren Turgor.

Wenn man ganze Wurzeln oder isolirte Rindenstreifen und Holzkörper, ja sogar die einzelnen Theile des letzteren in Wasser

bringt, so ziehen sie sich in kurzer Zeit um mehrere Procente ihrer Länge zusammen, und werden dabei steifer. Untersucht man die Dimensionsänderung in der Querrichtung an Querscheiben, so findet man, dass alle Gewebepartien sich bei der Wasseraufnahme ausdehnen. Eine Berechnung der Volumänderung lehrte, dass die Zunahme an Breite und Abnahme an Länge sich so zu einander verhalten, dass das Volumen dabei zunimmt. Obgleich die Dimensionänderungen keine sehr bedeutenden sind, gelang es doch, sie auch an einzelnen Parenchymzellen zu beobachten (vergl. Fig. 5 S. 61).

Die Dimensionsänderungen bei der Wasseraufnahme beruhen auf einer Zunahme des Turgors; dieses zeigt sich zumal auch darin, dass die Steifheit dabei zunimmt, während durch Wasserentziehung die Wurzeln wieder schlaff werden. Lässt man Wurzeln sich in Wasser kontrahiren, und bringt man sie nachher in starke Salzlösungen, so verlieren sie ihren Turgor und verlängern sich. Tödtet man sie nach der Wasseraufnahme durch künstliche Mittel, oder lässt man sie durch Sauerstoffmangel sterben, so verlängern sie sich gleichfalls, und ziehen sich dabei der Quere nach zusammen.

2. In lebenden Wurzeln sind die Zellhäute der Parenchymzellen durch den Turgor gespannt, und dabei in der Längsrichtung zusammengezogen.

Dieser Satz geht ohne Weiteres aus der Erfahrung hervor, dass lebende Wurzeln sich beim Verlust des Turgors verlängern. Es geschieht dieses durch Welken, durch Tödtung durch die verschiedensten Mittel und endlich durch Einwirkung von Salzlösungen. Die Verlängerung ist gering, und beträgt meist nicht 1 pCt. der ganzen Länge. Eine Abnahme an Dicke konnte in einigen Fällen dabei deutlich beobachtet werden.

3. Die nicht parenchymatischen Elemente betheiligen sich nicht in activer Weise an der Kontraktion; manche setzen dieser sogar einen erheblichen Widerstand entgegen.

Da die Kontraktion auf einer Zunahme des Turgors beruht, ist es selbstverständlich, dass die inhaltslosen Elemente sich an ihr nicht betheiligen. Sie werden also von den sich kontrahirenden Parenchymzellen passiv zusammengedrückt und setzen diesen wegen ihrer dicken und elastischen Wandungen einen Widerstand entgegen. Dass sie zusammengedrückt werden, erkennt man für

die Korkrinde aus den an Wurzelstämmen so häufigen Querrunzeln, für die Holzgefässe aus ihrem eigenthümlich geschlängelten Verlauf auf radialen Längsschnitten, und für die Bastfasern ist dasselbe sehr wahrscheinlich aus ihrem in tangentialer Richtung äusserst stark hin- und hergebogenen Verlauf. Von dem Bestehen eines Widerstandes überzeugt man sich beim Isoliren der einzelnen Partien des Holzkörpers; die gefässreichen centralen Theile dehnen sich dabei ganz bedeutend aus, während die gefässarmen peripherischen Streifen sich verkürzen.

Der Unterschied im anatomischen Bau der Wurzel und der Stengel krautiger Pflanzen findet in dem Obigen eine einfache Erklärung. In der Wurzel ist das kontraktile Parenchym im Uebermaass entwickelt, während die verholzten und dickwandigen Widerstand leistenden Elemente soweit wie möglich reducirt worden sind.

4. Sowohl die Parenchymzellen monocotyler Wurzeln als auch die cambiogenen Zellen der dicotylen Wurzeln mit Dickenwachsthum besitzen das Vermögen der Kontraktion; bei letzteren nimmt diese Eigenschaft mit zunehmendem Alter der Zellen stetig ab.

Die Abnahme der Kontraktilität mit dem Alter zeigt sich erstens darin, dass die Gewebetheile junger dicotyler Wurzeln sich bei der Aufnahme von Wasser um so stärker verkürzen und um so mehr verbreitern, je näher sie der cambialen Zone liegen. Zweitens darin, dass ältere Wurzeln sich in Wasser gar nicht mehr kontrahiren.

Der Unterschied in der Kontraktilität der verschiedenen Gewebepartien, sowie im Gehalt an nicht kontraktilen Elementen ruft Gewebespannungen hervor, indem die jüngeren Theile passiv ausgedehnt, die älteren aber zusammengedrückt werden. In der Querrichtung sind die älteren ausgedehnt und die jüngeren zusammengedrückt. Wasseraufnahme steigert diese Spannungen.

5. Wurzeln, welche das Vermögen der Kontraktion durch Wasseraufnahme besitzen, verkürzen sich auf die Dauer in bleibender Weise.

Es geht dieses ohne Weiteres daraus hervor, dass diejenigen Wurzeln, welche sich am meisten zu unseren Versuchen über den Turgor eignen, auch die sind, welche die Querrunzeln der Rinde oder den geschlängelten Verlauf der centralen Holzgefässe in schönster Weise zeigen.

Ob mit der dauernden Verkürzung auch eine entsprechende Zunahme an Dicke zusammenhängt, lässt sich bei dicotylen Wurzeln mit cambialem Dickenwachsthum wohl nicht experimentell beweisen. Monocotyle Wurzeln eignen sich hierzu weit besser; doch habe ich hierüber keine besonderen Versuche angestellt. An Wurzeln von auf Wasser cultivirten Hyacinthen sieht man häufig den oberen Theil mit gerunzelter Oberfläche dicker als den jüngeren mit glatter Haut, ebenso fand ich es bei einer Anzahl anderer Monocotylen, welche ich behufs dieser Untersuchung Ende Juli ausgraben liess. So z. B. bei *Iris Pseudacorus, Lillium Martagon, Gladiolus communis, Allium Moly.* Bei diesen Arten waren die Querrunzeln über einige Centimeter des oberen Theiles der Wurzeln sehr stark entwickelt, die Wurzeln hier erheblich dicker als im unteren Theil mit glatter Oberfläche; es weist dieses auf eine Verdickung durch die Kontraktion hin.

§ 12. *Vergleichung von Kontraktion und Zellstreckung.*

Die bisher bekannten Kontraktionserscheinungen im Pflanzenreich beruhen auf Wasserverlust der sich kontrahirender Zellen; eine Kontraktion durch Wasseraufnahme ist bis jetzt noch nicht beobachtet worden.

Dieser wichtige Unterschied zeigt uns, dass wir in sonstigen Kontraktionserscheinungen pflanzlicher Zellen keine Analogie mit der Wurzelkontraktion erwarten dürfen; vielmehr ist eine Analogie mit denjenigen Vorgängen zu erwarten, welche ebenfalls auf Erhöhung des Turgors beruhen, insbesondere mit der Zellstreckung.

Die bahnbrechenden Untersuchungen von Sachs über die Streckung der Stengel und der Wurzeln beim Längenwachsthum, und die vielen Arbeiten, welche im Anschluss an jene die Zellstreckung erforschten, ermöglichen es, eine sehr ausführliche Parallele zwischen Zellkontraktion und Zellstreckung zu ziehen.

Wir finden in folgenden Punkten Uebereinstimmung:

1. Die Zellhäute sich streckender und kontraktiler Zellen sind sehr dehnbar.
2. Die Zellhäute beider Gruppen von Zellen sind durch ihren Turgor gespannt.
3. Diese Spannung lässt sich durch Wasseraufnahme bedeutend erhöhen.
4. Der Turgor dehnt die Zellhäute in verschiedenen Richtungen in sehr ungleicher Weise aus.

Dagegen verhalten sich beide in folgenden Punkten verschieden:

1. Das Maximum der Dehnbarkeit fällt bei der Streckung mit der Richtung der Achse des Organs resp. der Zellen zusammen; bei den kontraktilen Zellen fällt in diese Richtung das Minimum der Dehnbarkeit.
2. Die sich streckenden Zellen werden, so weit bekannt, bei Erhöhung des Turgors in allen Richtungen ausgedehnt, die kontraktilen Zellen dagegen in der Längsrichtung verkürzt.

Betrachten wir diese beiden letzteren Punkte etwas näher, so werden wir sehen, dass sie nicht von prinzipieller Bedeutung sind.

Denn die Richtung des Maximums der Dehnbarkeit hängt offenbar nicht ohne Weiteres von der Form des Organes ab, sondern ist wohl einfach eine Erscheinung der Adaption, indem durch sie die Richtung des stärksten Längenwachsthums bestimmt wird. Darum sind die Zellhäute sich streckender Zellen in der Längsrichting dehnbarer als in der Querrichtung, und haben diejenigen der kontraktilen Zellen das Maximum der Dehnbarkeit in der Querrichtung.

Was den zweiten Punkt anbelangt, so ist er, wie wichtig er auch scheine, doch nur quantitativer Natur. Wenn ein dehnbarer Körper, z. B. ein Kautschukstreifen in einer Richtung ausgedehnt wird, so zieht er sich in der Richtung senkrecht auf dieser zusammen. Die Grösse dieser Zusammenziehung hängt in bestimmter Weise von der Grösse der Ausdehnung ab. Wenn die ausdehnende Kraft dieselbe bleibt, aber die Dehnbarkeit wechselt, so ändert sich mit der Grösse der Ausdehnung auch die der Zusammenziehung in der Quere. Zellhäute werden durch den Turgor gleichzeitig und mit derselben Kraft in allen Richtungen ausgedehnt; sie sind aber in verschiedenen Richtungen verschieden dehnbar. Wirkte der Turgor nur in der Längsrichtung, so würde die Zelle durch ihn länger und schmaler werden. Genau dasselbe würde offenbar der Fall sein, wenn die Haut ausschliesslich in der Längsrichtung dehnbar wäre. Aber auch, wenn die Dehnbarkeit in der Querrichtung nur sehr viel kleiner wäre als in der Längsrichtung, würde die Zelle sich durch den Turgor verschmälern.

Die sich streckenden und die kontraktilen Zellen stimmen nun darin überein, dass ihre Zellhäute in der einen Richtung viel dehnbarer sind als in der anderen; die Differenz ist aber bei ersteren offenbar nicht gross genug, um eine Grössenabnahme in einer Richtung zu Stande kommen zu lassen, bei letzteren aber wohl.

Man sieht, dass die kontraktilen Zellen in allen Punkten mit den sich streckenden übereinstimmen, nur dass sie anders orientirt sind, und dass die Verschiedenheit in der Dehnbarkeit ihrer Zellhäute in verschiedenen Richtungen eine viel grössere ist als bei jenen.

Zieht man nun noch in Erwägung, dass Formen von Zellen auf die Dauer bleibende Aenderungen erleiden (wachsen), und dass in beiden die Aenderungen offenbar in derselben Weise von den Turgorerscheinungen abhängen, so wird man mir wohl zustimmen, wenn ich als Hauptresultat der vorliegenden Arbeit den Satz aufstelle:

Die Kontraktion der Wurzeln ist eine besondere Form der Zellstreckung.

§ 13. *Ueber den Einfluss der Dehnbarkeit der Zellhäute auf deren Wachsthum.*

Die mitgetheilten Resultate sind geeignet, die Aufmerksamkeit, mehr als es bisher geschah, auf die Bedeutung der Dehnbarkeit der Zellhäute für das Wachsthum zu lenken. In der bekannten Sachs'schen Theorie des Wachsthums spielt allerdings diese Dehnbarkeit eine Hauptrolle, indem die Dehnung selber als eine der wichtigsten Ursachen des Zellhautwachsthums betrachtet wird. Jedoch hatte Sachs nur eine Form des Wachsthums, das Längenwachsthum oder die sogenannte Streckung hauptsächlich im Auge, nur diese Form war bisher so weit empirisch durchforscht, dass sie eine hinreichende Basis für seine Theorie bilden konnte. Wir haben nun, so zu sagen, das andere Extrem kennen gelernt, und wir haben gesehen, wie auch hier die Erscheinungen sich den von Sachs entwickelten Prinzipien unterordnen. Wir sahen, welche Eigenschaften beiden Extremen gemeinschaftlich sind, und in welchem Punkte sie differiren. Dieses führt uns selbstverständlich dazu, jenen gemeinschaftlichen Eigenschaften eine viel allgemeinere Bedeutung für die Wachsthumserscheinungen beizulegen, und für die Differenzpunkte nach Abstufungen und verbindenden Gliedern zu suchen.

Betrachten wir also das Wachsthum von Zellen und Organen als in erster Linie bedingt durch die Turgorkraft des Zellinhaltes und die Dehnbarkeit der Zellhaut, so ist es deutlich, dass jene nur die totale Intensität des Wachsthums reguliren kann, während sämmtliche Formänderungen, welche eine Zelle bei ihrem Wachsthum erleidet, durch letzteren Factor bedingt sein können. Denn die

Turgorkraft ist notwendig an allen Punkten der Zelle dieselbe, die Dehnbarkeit der Haut kann aber, sowohl an verschiedenen Punkten, als auch in verschiedenen Richtungen verschieden sein.

Wir wollen das Gesagte an einigen Beispielen beleuchten 1). Zunächst in Bezug auf mögliche Dehnbarkeit in verschiedenen Richtungen. Wählen wir uns eine niedrige cylindrische Zelle, und es sei die gebogene Wand in der Richtung senkrecht zu den beiden Endflächen sehr stark dehnbar, in anderen Richtungen nur wenig dehnbar. Jede Erhöhung des Turgors wird eine solche Zelle höher machen, und falls die Endflächen wenig dehnbar sind, wird dabei einfach aus dem niedrigen, ein hoher Cylinder werden. Ist die Cylinderwand in der Querrichtung etwas mehr dehnbar, so wird die Zelle gleichzeitig bauchig aufgeblasen werden.

Herrscht in einer Zelle oder einem Organ die Dehnbarkeit in der Längsrichtung vor, so wird es sich hauptsächlich in dieser Richtung verlängern; herrscht die Dehnbarkeit in querer Richtung vor, so wird es sich verbreitern. So mag eine jugendliche Kartoffelknolle am Ende ihres Stolo dadurch entstehen, dass die anfangs geringe Dehnbarkeit der Zellen in der Querrichtung sehr bedeutend zunimmt. Derselben Ursache dürfte das Dickenwachsthum von fleischigen Wurzeln, Knollen, Zwiebeln und dergleichen zuzuschreiben sein, soweit es wenigstens nicht durch cambiale Neubildungen vermittelt wird.

Dass blattartige Organe vorwiegend in zwei Richtungen und nicht auch in der dritten wachsen, erklärt sich wahrscheinlich aus einer sehr geringen Dehnbarkeit der Zellhäute in jener Richtung.

Denken wir uns an einer kugeligen Zelle die Dehnbarkeit an einem Punkte in allen Richtungen grösser als an jedem anderen Punkte. Eine kräftige Zunahme des Turgors wird eine solche Zelle offenbar an jenem Punkte ausstülpen, und dauert die Dehnbarkeit dort fort, so wird unter Umständen eine Röhre aus der Zelle hervortreten können, wie solches zum Beispiel bei keimenden Pollenkörnern und Sporen der Fall ist. Eine Epidermiszelle, deren Aussenwand dehnbarer ist als die übrigen Wände, wird unter dem Einfluss des Turgors zur Papille oder zum Haar auswachsen können. Differenziren sich an dem Haare wieder verschiedene Punkte maximaler Dehnbarkeit, so wird es sich verzweigen u. s. w. Ob eine Cambiumzelle, welche zur Holzfaser wird, ihre ursprüngliche Länge beibehalten, oder sich durch Spitzenwachsthum vergrös-

1) Vergl. auch Sachs Lehrbuch der Botanik. 4 Aufl. S. 780.

sern wird, wird von der Dehnbarkeit ihrer Haut an den beiden Enden abhängen. Ein eclatantes Beispiel liefern die Thyllen, deren Entstehung wohl stets durch grosse Dehnbarkeit der Tüpfelhaut und hohen Turgor der sich ausstülpenden Zelle erklärt wurde.

Es würde zu weit führen, wollte ich alle übrigen sich darbietenden Fälle aufzählen. Ich halte dieses auch für überflüssig, denn man wird sich schon überzeugt haben, dass überhaupt die Vertheilung der Dehnbarkeit über die Zellhaut während des Wachsthums die Form der fertigen Zelle bedingen muss. Bei mehrzelligen Organen wird die Sache selbstverständlich complicirter, denn hier kann auch der Turgor an verschiedenen Stellen eine verschiedene Grösse erreichen, und so z. B. die Ursache zu lokalen Ausstülpungen werden.

Es wäre sehr wichtig, die Dehnbarkeit der Zellhäute von den erörterten Gesichtspunkten aus einer experimentellen Prüfung zu unterwerfen. Die Vergleichung der Form der Zellen im wasserreichen und im plasmolytischen Zustande wird hierzu in vielen Fällen, wenigstens bei hinreichend grossen Unterschieden in der Dehnbarkeit, das Mittel bieten.

Der denkende Leser wird vielleicht noch einen Schritt weiter gehen wollen,und eine Antwort auf die Frage verlangen, durch welche Ursachen die ungleiche Dehnbarkeit der Zellhäute selbst bedingt wird. Eine Antwort auf diese Frage kann aber gegenwärtig noch kaum in Aussicht gestellt werden, nur so viel lässt sich sagen, dass die fragliche Eigenschaft der Zellhäute ohne Zweifel der Hauptsache nach durch die erblichen und physikalischen Eigenschaften des Protoplasma verursacht wird.

(Landwirthschaftliche Jahrbücher 1880 Bd. IX p. 37).

SUR LES CAUSES DES MOUVEMENTS AUXOTONIQUES DES ORGANES VÉGÉTAUX.

Sous le titre: „Sur les mouvements des vrilles de *Sicyos*", j'ai publié il y a quelque temps des recherches dont le but était de résoudre cette question: quelle est la part de la turgescence et de l'intussusception dans les phénomènes de courbure des organes multicellulaires en voie de développement, ou courbures auxotoniques 1)? Qu'il me soit permis de communiquer ici les résultats de ces recherches 2).

A la question que je viens de poser mes expériences ont donné directement la réponse suivante:

La cause des courbures auxotoniques consiste en une ugmentation de la force de turgescence dans les cellules du côté qui plus tard deviendra convexe.

Cette augmentation de la force de turgescence a naturellement pour effet que les cellules de ce côté absorbent plus d'eau et par suite s'agrandissent. C'est ainsi que commence la courbure.

L'agrandissement des cellules a pour conséquence une distension des parois cellulaires, et celle-ci accélère l'intussusception. Par là, la courbure produite est en quelque sorte fixée.

Il résulte de cette solution que les courbures auxotoniques se rattachent d'une manière très simple à la théorie de l'accroissement proposée par M. Sachs, car, l'augmentation de la force de turges-

---

1) J'appelle *auxotoniques* (*αὐξω,* accroître; *τονος,* turgescence), les mouvements causés par une augmentation de la turgescence des organes, qui n'est pas suivie d'un raccourcissement, comme dans l'héliotropie, la géotropie, la nutation, l'épinastie et surtout dans les mouvements des vrilles; et *allassotoniques* (*ἀλλασσω,* varier) ceux où l'augmentation de la turgescence alterne avec une diminution de volume, comme dans les mouvements de la sensitive et des étamines des cynarées.

2) Pour les détails des expériences et des méthodes d'après lesquelles elles ont été instituées, je renvoie au Mémoire original, inséré dans *l'Opera* I p. 519. Voir aussi mes articles *Ueber die Aufrichtung des gelagerten Getreides,* dans *Landw. Jahrbücher,* t. IX, 1880, fasc. 2, et *Sur l'injection des vrilles Opera* II p. 6. Une couple de communications préliminaires avaient déjà paru (*Opera* I p. 503 et 511.)

cence une fois reconnue comme cause des courbures, il est facile de déduire de cette théorie comment les choses se passent ultérieurement.

Mes expériences toutefois permettent de pénétrer encore plus profondément dans le mécanisme de ces courbures et d'apprendre à connaître encore mieux la connexion qui existe entre ces phénomènes et l'accroissement longitudinal lui-même. Pour cela, il est nécessaire de considérer de plus près la force de turgescence.

Cette force est l'attraction que les matières dissoutes dans le suc cellulaire exercent, à travers le protoplasme vivant, sur l'eau ambiante. Le protoplasme vivant livre facilement passage à l'eau, tandis qu'il ne se laisse pas traverser, ou du moins ne se laisse traverser que très difficilement, par les matières dissoutes dans le suc cellulaire. Il suit de là que les cellules vivantes absorbent bien l'eau de leur entourage, mais qu'elles ne cèdent pas d'autres matières en échange, du moins pas en quantité appréciable.

Il est clair que, les propriétés du protoplasme et de la paroi cellulaire étant données, la grandeur de la force de turgescence dépendra principalement de la nature et de la quantité des substances dissoutes dans le suc cellulaire. Tout changement dans la quantité de ces substances, surtout de celles qui exercent la plus grande attraction sur l'eau, fera naturellement varier la force de turgescence.

La grandeur de cette force, toutefois, ne dépend pas simplement de la quantité absolue de ces matières osmotiques, mais du degré de concentration auquel elles se trouvent dans le suc cellulaire. Aussi, à mesure que la force de turgescence produit son effet et dilate la cellule par l'absorption d'eau, elle s'affaiblit nécessairement elle-même. Réciproquement, toute perte d'eau que la cellule subit accroît cette force.

La force de turgescence dépend donc, dans les circonstances données:

1°. de la quantité et de la nature des matières osmotiques.

2°. de la quantité d'eau contenue dans les cellules.

Pendant l'accroissement, et aussi pendant la formation des courbures auxotoniques, les cellules augmentent toujours de volume en absorbant de l'eau; par suite, la force de turgescence devrait toujours diminuer. Lorsque cette diminution n'a pas lieu, ce ne peut être que parce que la quantité des matières osmotiques augmente dans le suc cellulaire.

Cette conclusion, comme on voit, découle nécessairement de ma

manière d'envisager la turgescence 1). Etudions maintenant, à ce point de vue, quelques faits particuliers 2).

I. *Action de l'irritation sur les vrilles.* Une vrille droite de *Sicyos angulatus* s'était courbée autour d'un support, de manière à former ½ spire. La partie courbée avait 5 mm. de long; au-dessus, la vrille était restée droite. Dans cet état elle fut injectée d'eau, après quoi elle s'enroula, en vingt minutes, jusqu'à former 7¼ spires étroites; les parties de la vrille qui étaient droites avant l'injection se courbèrent, et d'autant plus fortement qu'elles étaient plus près du point où la vrille touchait le support.

Voyons quel changement l'excitation avait pu produire dans les deux parties restées droites, de part et d'autre de la partie courbée. Le résultat de ce changement avait été le pouvoir de s'enrouler en spires étroites après l'injection d'eau, par conséquent le pouvoir du parenchyme de s'étendre très fortement dans ces conditions, en un mot, d'après nos développements antérieurs, l'accroissement de la force de turgescence du parenchyme.

Or, les parties restées droites n'ayant éprouvé sous l'influence excitante aucune modification visible à l'extérieur, il est évident que cet accroissement de la force de turgescence ne peut pas provenir d'une diminution de la proportion d'eau, mais uniquement d'une augmentation de la quantité des matières osmotiques. L'action de l'irritation sur les deux parties restées droites, à côté de la partie courbée, consiste donc en ce que la quantité des matières osmotiques s'accroît dans le parenchyme, c'est-à-dire en ce qu'il se produit une nouvelle quantité de ces matières.

Il est clair que l'irritation exerce aussi la même influence sur la partie qui est directement en contact avec le support. En outre, le résultat de l'injection nous apprend que l'effet de l'irritation devient moindre à une certaine distance du support et qu'enfin il disparaît entièrement. Nous pouvons donc énoncer la conclusion suivante:

L'irritation détermine une production de matières osmotiques dans les cellules du parenchyme.

Cette production est d'autant plus abondante que les cellules sont moins éloignées du point touché.

Il est évident que cette conclusion s'applique aussi aux autres cas.

II. *Le commencement de l'enroulement épinastique.* Une autre vrille

1) *Opera* I. p. 86.

2) La description détaillée des expériences suivantes se trouve dans l'*Opera* II p. 6.

de *Sicyos* avait fait 1½ spires épinastiques, lorsqu'elle fut injectée. A la suite de cette opération, la partie déjà courbée s'enroula davantage, de manière à présenter, au bout de 7 minutes, 2 spires ½.

Dans une vrille droite, l'injection d'eau n'occasionne pas de courbure.

Au commencement du mouvement épinastique, les cellules du parenchyme étaient donc devenues plus grandes dans la partie qui se courbait; en même temps, la force de turgescence avait augmenté. Il s'était donc formé, lors de ce mouvement, une certaine quantité de matières osmotiques, dont une partie, pour s'exprimer ainsi, avait déterminé la courbure en absorbant de l'eau, tandis qu'une autre partie, encore inactive, ne s'était manifestée comme force de turgescence active qu'à la suite de l'injection.

La cause du commencement du mouvement épinastique consiste donc en une formation de matières osmotiques dans le parenchyme.

III. *Cause des mouvements épinastiques.* Les vrilles droites ne se courbent pas quand on les injecte. Cela prouve que dans cette phase l'apport d'eau par les tissus de la vrille est assez grand pour rendre la force de turgescence tout entière active. Les vrilles qui se sont complètement enroulées et qui ont cessé de se mouvoir, ne changent pas non plus leur courbure lorsqu'elles sont injectées d'eau. Chez elles aussi, la force de turgescence est entièrement active. Dans ces deux états, les vrilles sont au repos en ce qui concerne les mouvements épinastiques. Pendant l'extension épinastique des jeunes vrilles et pendant l'enroulement des vrilles un peu plus vieilles, l'injection d'eau a toujours pour effet une accélération du mouvement. Une partie de la force de turgescence est donc alors inactive.

De là il suit directement, d'après les considérations développées plus haut, que, *durant les mouvements épinastiques, des matières osmotiques se forment incessamment dans le parenchyme*, que la quantité de ces matières augmente d'une façon continue. Car c'est ainsi seulement qu'une partie de ces matières peut toujours rester inactive; si la production s'en arrêtait, toute la force de turgescence ne tarderait pas à devenir active par l'apport normal d'eau.

Malgré cette production continue de matières osmotiques, la force de turgescence ne s'accroît pas nécessairement lors des incurvations épinastiques. Cela devient évident, si l'on réfléchit que la concentration des matières osmotiques est continuellement affaiblie par l'eau incessamment absorbée.

IV. *Accroissement en longueur des vrilles.* Indépendamment des mouvements dont il vient d'être question, les vrilles, considérées dans leur ensemble éprouvent aussi un accroissement en longueur, tant dans la phase de l'extension épinastique, que plus tard, lorsqu'elles sont droites. Il est clair, toutefois, que cet accroissement doit dépendre en général des mêmes causes auxquelles sont dues les courbures des vrilles. Nous pouvons donc admettre qu'ici encore il y a dans le parenchyme une production continue de matières osmotiques, qui, par l'absorption d'eau, déterminent l'agrandissement du tissu et, par suite, l'accroissement de la vrille. Quant à savoir si la force de turgescence augmente ou diminue alors à la longue, c'est une question qui est provisoirement indifférente pour l'objet que nous avons en vue.

La conclusion générale de cette suite de raisonnements s'offre maintenant d'elle-même:

La cause de l'accroissement, des mouvements épinastiques et des mouvements d'irritation réside dans la production de matières osmotiques au sein du parenchyme.

De là on déduit, tout naturellement aussi, que l'irritation ne fait pas autre chose qu'accélérer tout à coup la production de ces matières, laquelle procède avec lenteur dans la vrille non irritée. Cette accélération, d'après tous les faits communiqués dans le mémoire cité, est seulement de nature passagère, et elle est limitée aussi quant à l'étendue où elle s'exerce. Nous pouvons donc dire:

Par l'irritation, l'acte de la production de matières osmotiques, qui est la cause de l'accroissement, éprouve une accélération temporaire et locale.

Appliquons maintenant ce qui vient d'être trouvé pour les vrilles de *Sicyos* à l'accroissement et aux courbures auxotoniques d'autres organes végétaux. Il existe une très grande analogie entre tous ces phénomènes, si grande, qu'on ne voit aucune raison pour que la même explication ne convienne pas à tous.

Les courbures des organes végétaux en voie d'accroissement, qu'elles soient provoquées par des causes externes ou internes, ont pour cause immédiate une augmentation de la force de turgescence à l'un des côtés de l'organe. Cette augmentation de la force de turgescence ne peut naturellement se produire que par la formation d'une certaine quantité de matières osmotiques.

Dans les organes caulinaires jeunes et se développant rapidement, la grandeur de la force de turgescence, d'après mes obser-

vations, n'est soumise qu'à des variations légères 1). Il suit de là, puisque le volume des cellules augmente constamment durant l'accroissement, qu'une production continue de matières osmotiques doit avoir lieu, pour maintenir environ au même degré la force osmotique du suc cellulaire.

En cas de courbures géotropiques, héliotropiques et autres 2), s'opérant au cours de l'accroissement, il arrive donc, tout comme pour les mouvements des vrilles sous l'influence d'une excitation, qu'un processus, qui dans les circonstances ordinaires marche lentement et régulièrement, se trouve temporairement accéléré à l'un des côtés de l'organe végétal. En d'autres termes:

Dans des organes végétaux multicellulaires en voie d'accroissement, la pesanteur et la lumière, de même que d'autres excitants, occasionnent des courbures en accélérant, à l'un des côtés de l'organe, la production de matières osmotiques qui détermine l'accroissement en longueur.

Jusqu'ici j'ai considéré, d'une manière générale, comme osmotiques, les matières dissoutes qui se trouvent dans le suc cellulaire, sans m'appesantir sur la nature de ces matières, et sans demander si quelques-unes d'entre elles ne joueraient pas dans ce phénomène un rôle plus important que les autres. Vu l'importance capitale que, d'après les raisonnements exposés, ces matières paraissent posséder pour la théorie mécanique de l'accroissement, il convient de chercher aussi à résoudre la question qui vient d'être posée.

Mes recherches sur les causes des mouvements des vrilles du *Sicyos* me permettent d'aller, dans cette direction, un peu plus loin que je n'avais pu le faire antérieurement.

L'observation, que les solutions de certains sels inorganiques peuvent enlever l'eau aux cellules vivantes avec beaucoup plus de force que des solutions de sucre du même degré de concentration, et d'autres faits corrélatifs, m'avaient fait adopter autrefois l'opinion que ce sont surtout de pareils sels, ou d'autres substances se rapprochant d'eux sous le rapport en question, qui jouent le principal rôle dans la turgescence 3). Le sucre, l'albumine, la gomme et les matières analogues ne pouvaient y avoir, en effet, qu'une part subordonnée.

---

1) *Untersuchungen über die mechanischen Ursachen der Zellstreckung Opera* I p. 509.

2) La description des expériences, desquelles je déduis cette conclusion, se trouve dans *Opera* p. 519.

3) *Opera* I p. 86 et p. 395.

Dans le suc des cellules du parenchyme d'organes végétaux en voie d'accroissement, outre le sucre et les sels inorganiques, on trouve généralement aussi des sels d'acides végétaux, et ceux-ci partagent, avec les sels inorganiques en question, précisément la propriété dont il s'agit, à savoir, la très grande attraction pour l'eau. Il est facile de s'assurer de l'existence d'un acide libre ou de sels acides dans le parenchyme des vrilles de *Sicyos*; on n'a pour cela qu'à en diviser des fragments suivant leur longueur, à étancher le liquide, sans acidité appréciable, qui s'écoule des faisceaux vasculaires, et à les presser ensuite sur du papier bleu de tournesol. Les cellules du parenchyme sont alors écrasées, et l'objet laisse une empreinte rouge sur le papier. En dehors des différentes espèces de sucres, des sels inorganiques et des acides et sels organiques, il n'y a pas d'autres matières dissoutes qui soient assez communes dans les cellules parenchymateuses des organes végétaux en voie d'accroissement, pour qu'il y ait lieu d'en tenir compte ici.

Fixons maintenant notre attention sur les mouvements rapides que les vrilles de *Sicyos* exécutent lorsqu'elles ont été irritées, et sur l'accélération très considérable que ces mouvements éprouvent après que les vrilles ont été injectées d'eau. Quelles sont les matières qui, dans un si court espace de temps, peuvent être produites en quantité suffisante pour expliquer ce phénomène? Naturellement, ce n'est pas le sucre. Ce ne sont pas non plus les sels inorganiques, qui ne se diffusent que très lentement de l'extérieur à l'intérieur des cellules. Il ne reste donc que les acides végétaux 1), et une production soudaine de ceux-ci dans des cellules vivantes ne peut, à aucun point de vue, être regardée comme invraisemblable. Il est donc permis d'émettre, avec un certain degré de probabilité, la présomption que les matières osmotiques, qui à la suite d'une irritation se forment dans le parenchyme des vrilles de *Sicyos*, sont des acides végétaux.

Or, d'après ce que nous avons vu ci-dessus, l'action des irritations consiste simplement dans l'accélération temporaire d'un processus qui ordinairement marche avec lenteur et qui fournit les forces indispensables à l'accroissement; la présomption émise conduit donc nécessairement à cette autre: que les matières osmotiques, dont la production continuelle dans les cellules détermine

1) Pour éviter des répétitions, je comprends sous le nom d'acides végétaux tant les sels organiques acides que les acides organiques libres.

l'accroissement des vrilles, consistent aussi, essentiellement sinon exclusivement, en acides végétaux.

Il est évident que ces raisonnements peuvent être appliqués avec tout autant de droit aux courbures géotropiques et héliotropiques, et même aux phénomènes d'accroissement en général. Et si, dans les organes en voie d'accroissement, la turgescence dépend des acides, ceux-ci joueront bien encore, tant qu'ils existent, le même rôle dans les parties parvenues à l'état adulte.

Ces considérations nous autorisent, je crois, à présumer que parmi les matières osmotiquement actives, qui occasionnent la turgescence dans les cellules des plantes, les acides végétaux jouent le rôle principal, et que l'accélération unilatérale de l'accroissement, déterminée par des causes extérieures, repose sur l'accélération du phénomène de la production de ces acides végétaux [1]).

J'avoue que j'attache de l'importance à cette présomption, non-seulement pour les raisons déjà dites, mais aussi parce qu'elle jette du jour sur la signification de l'existence si générale des acides organiques dans les plantes, signification dont, à part une hypothèse ancienne et déjà complètement réfutée, on n'avait jusqu'ici pas la moindre idée.

Aussitôt que cela me sera possible, je contrôlerai par des expériences l'exactitude de mon hypothèse, et je tâcherai d'obtenir la certitude expérimentale au sujet du rôle des acides organiques en général.

Pour terminer, je parlerai encore de quelques phénomènes qui ont été observés lors des incurvations d'organes pluricellulaires en voie d'accroissement, et dont on a vainement cherché jusqu'ici une explication satisfaisante. Pour plusieurs d'entre eux, cette explication se présente maintenant d'elle-même; pour d'autres, on peut au moins indiquer la voie qui y conduira.

1. *Continuation des incurvations auxotoniques après que l'irritation a cessé.*

M. Sachs a mis de jeunes branches pendant peu de temps dans une situation horizontale, puis, après qu'elles avaient commencé à se courber géotropiquement vers le haut, il les a placées ou bien verticalement, ou bien de façon que le plan de courbure fût horizontal. Dans les deux cas, la direction de la branche était changée relativement à la pesanteur, mais l'incurvation géotropique n'en continua pas moins encore quelque temps dans le plan de courbure primitif [2]).

1) Voir ma communication préliminaire: *Ueber die Bedeutung der Pflanzensäuren für den Turgor der Zellen, Opera* I p. 511.

2) *Flora,* 1873, p. 325.

J'ai observé un phénomène analogue chez les vrilles: lorsqu'elles ont commencé à se contourner autour d'un support, et qu'alors on enlève celui-ci, le mouvement persiste encore quelque temps 1).

L'explication de ces faits empiriques est très simple. La pesanteur et l'irritation accélèrent la production des matières osmotiques dans les cellules parenchymateuses du côté qui devient convexe; par suite, ces cellules attirent de l'eau et s'agrandissent. Mais l'afflux de l'eau se fait avec lenteur, de sorte que durant un certain temps, comme le prouvent aussi mes expériences d'injection, la force d'attraction pour l'eau n'est pas satureé. Aussi, en supposant même que la production des matières en question s'arrête dès qu'on a retourné les branches géotropiques ou enlevé le support des vrilles, les cellules n'en continueront pas moins, pendant quelque temps encore, à absorber de l'eau et à s'agrandir. La courbure fera donc nécessairement encore quelques progrès, apres que le stimulant aura cessé d'agir.

2. *Courbure sans absorption d'eau.*

Il a été observé par M. Sachs que des parties de tiges en voie d'accroissement, détachées des parties adultes et débarrassées de tous les appendices, placées horizontalement dans un espace humide, et fixées de telle sorte qu'elles ne pouvaient absorber de l'eau, se redressaient pourtant par une courbure géotropique 2). Le côté inférieur devenait plus long, le côte supérieur devenait ordinairement plus court. De même, j'ai trouvé que des segments de vrilles de *Sicyos*, après qu'on a étanché le suc qui s'écoule des faisceaux vasculaires, peuvent se courber sous l'influence d'une irritation, sans absorber de l'eau.

Voici comment ce fait s'explique. Primitivement, les forces de turgescence des cellules sont en équilibre les unes avec les autres tout autour de la branche ou de la vrille; aucune cellule n'enlève de l'eau à une autre. Mais l'irritation ou la pesanteur venant accroître subitement la force de turgescence à l'un des côtés, l'équilibre se trouve rompu, et les cellules stimulées peuvent alors soustraire de l'eau aux autres cellules. Les premières s'agrandissent, les secondes deviennent plus petites, et l'organe doit par conséquent se courber.

---

1) *Opera* I p. 212.
2) *Flora,* 1873, p. 329.

3. *Raccourcissement du côté concave.*

M. Sachs a fait voir que les nœuds des Graminées, lorsqu'ils éprouvent une courbure géotropique, se raccourcissent fréquemment au côté qui devient concave, et parfois assez fortement pour que ce côté présente des plis profonds [1]). Chez les vrilles qui s'enroulent autour de supports ou épinastiquement, j'ai trouvé que le côté concave tantôt augmente en longueur, tantôt ne change pas, tantôt enfin devient plus court. Ce dernier effet se montre surtout quand la vitesse d'accroissement totale est très faible au temps où la vrille se courbe [2]).

Dans les deux cas, le raccourcissement du côté concave doit être attribué en partie à une perte d'eau, en partie à une compression mécanique. La première circonstance est une suite naturelle de l'excitation, qui rompt l'équilibre original entre les forces de turgescence des cellules. L'accroissment de la force de turgescence dans les cellules d'un des côtés fait que ces cellules soustraient de l'eau aux autres; de là, pour ces dernières, diminution de volume et contraction des parois cellulaires élastiques et tendues [3]).

Quant à savoir s'il s'opérera une compression mécanique du côté concave, cela dépend naturellement de la place relative occupée par les tissus qui se dilatent et par ceux qui sont distendus passivement, ainsi que de la grandeur des forces développées; à cet égard, toutefois, les recherches nécessaires font encore défaut.

Le raccourcissement du côté concave n'est qu'un cas particulier du fait général que, dans les courbures auxotoniques, le côté concave croît toujours plus lentement qu'il n'aurait crû si l'organe était resté droit. Pour les vrilles, les tiges, et aussi pour les racines [4]), cette règle, en tant que l'expérience a décidé, ne souffre pas d'exception. Il est clair que la même explication est ici de mise, et que la cause du raccourcissement doit être cherchée dans une perte d'eau, occasionnée par l'accroissement de la force de turgescence dans les cellules du côté qui devient convexe. Pour ce qui regarde la question de savoir si la vitesse d'accroissment totale sera autre dans des organes qui se courbent que dans des organes restant droits, la réponse dépend en partie de l'apport d'eau, et en partie de la résistance des tissus distendus passivement.

---

1) *Arb. d. Bot. Instit. in Würzb.*, II, 1872, p. 204.
2) *Opera* I p. 209.
3) Voir Sachs, *Lehrbuch d. Botanik*, 4e édit., p. 841, 842.
4) Sachs, *Arbeiten d. Bot. Inst. in Würzb.*, III, p. 471.

4. *Les courbures des vrilles sont indépendantes de l'épaisseur du support.*

La plupart des vrilles peuvent se courber autour des supports les plus minces, et forment alors des spires extrêmement étroites. Quand elles s'enroulent autour de supports plus épais, elles ne s'appliquent pas simplement sur eux, mais cherchent à se courber encore plus fortement. Si le support est une feuille, ou un cylindre de papier, il est de fait comprimé par la vrille. Offre-t-il plus de résistance, on voit assez souvent, surtout quand il est très épais, la vrille se courber latéralement et former ainsi une ligne en zigzag. En un mot, la différence d'accroissement entre le côté supérieur et le côté inférieur ne dépend nullement de l'épaisseur du support, mais de causes internes. Cela était du reste facile à prévoir, d'après ce que nous savons maintenant de l'action du stimulant. Le degré de la courbure peut dépendre de la durée du contact avec le support, mais non de sa forme; le contact d'un point donné de la surface de la vrille avec le support est indépendant de l'épaisseur du support, et c'est uniquement ce contact qui détermine la mesure dans laquelle l'accroissement est accéléré [1]).

5. *Courbure potentielle.*

Quand des organes caulinaires en voie d'accroissement ont été placés horizontalement et maintenus de telle sorte qu'il leur soit absolument impossible de se courber, si alors, au bout de quelques heures, on leur rend la liberté, ils se courbent tout d'un coup très fortement, le côté inférieur devenant convexe. Pour obtenir ce résultat, on peut, par exemple, les fixer sur une plaque de liège, avec des épingles courbées. Si une vrille droite de *Sicyos* est appliquée par son côté inférieur sur une plaque de verre, puis recouverte d'une autre plaque semblable, elle se courbe brusquement et très fortement quand, au bout de quelque temps, on enlève les plaques.

Dans ces deux cas, le pouvoir de se courber a donc été acquis par les parties végétales dans des conditions où elles ne pouvaient exécuter la courbure elle-même. La chose est du reste toute naturelle. Dans les cellules du côté qui plus tard devient convexe, la force de turgescence a été accrue par l'action stimulatrice (pesanteur, contact avec un corps solide), les cellules ont peu à peu absorbé l'eau, et comme elles ne pouvaient s'étendre en longueur,

---

1) *Opera* I p. 214.

elles ont dilaté et tendu leurs parois dans d'autres directions. L'obstacle disparaissant, elles prendront instantanément la forme qui s'accorde avec l'extensibilité et l'élasticité des parois cellulaires. Ce fait montre en même temps quelle faible extensibilité et quelle grande élasticité les parois des cellules parenchymateuses d'organes en voie d'accroissement doivent posséder dans le sens transversal, pour empêcher une compression par les tissus distendus passivement.

Si des segments de chaumes de Graminées, pourvus d'un jeune nœud en leur milieu, sont liés horizontalement de façon qu'aucune flexion ne soit possible, et qu'on les détache après quelque temps, le nœud contracte immédiatement une légère courbure. Lorsque l'expérience dure plus longtemps, la gaîne de la feuille se plisse dans le nœud au côté inférieur; cet effet se produit quelquefois avec tant de force, que le nœud éclate. Nous voyons donc, ici encore, que l'allongement et la courbure sont le résultat de tensions, qui, dans les circonstances défavorables données, peuvent atteindre une valeur considérable.

6. *Rétrogradation après une excitation temporaire.*

MM. Asa Gray et Darwin 1) ont décrit le fait que des vrilles, après avoir exécuté une courbure à la suite de l'une ou l'autre excitation, peuvent de nouveau s'étendre complètement lorsque le stimulant a cessé d'agir. Le mouvement rétrograde est toujours lent, même chez les vrilles de *Sicyos*, qui, après avoir été frottées au côté inférieur, se sont très fortement courbées en peu de minutes. Ce fait trouve probablement son explication dans la circonstance que, à la production rapide de matières osmotiques, succède une période où ce processus s'opère plus lentement que d'ordinaire. Les choses se passent comme si les matériaux nécessaires à cette production avaient été temporairement épuisés en majeure partie, et que l'apport de nouveaux matériaux ne se fît qu'avec lenteur. Dans mes expériences d'injection, j'ai rencontré plus d'une fois une pareille période de ralentissement. Pendant que, au côté supérieur de la vrille, l'accroissement du parenchyme se trouve ainsi dans une phase de ralentissement, il suit sa marche normale au côté inférieur; le résultat doit être qu'au bout de quelque temps les deux côtés seront redevenus également longs.

Je reconnais que cette explication est encore loin de résoudre toutes les difficultés, mais, pour cela, une étude plus exacte du

1) *Climbing plants,* p. 130.

phénomène de rétrogradation sera nécessaire. Peut-être une semblable étude fournira-t-elle des preuves directes de l'existence supposée d'une période de ralentissement, et deviendra-t-elle ainsi le point de départ d'importantes recherches sur la mécanique des courbures auxotoniques.

7. *Courbure d'organes fendus.*

M. Sachs a montré que lorsque des extrémités de racines, fendues suivant l'axe, sont placées dans une position telle que la face de section soit horizontale, les deux parties se courbent géotropiquement vers le bas, et que le côté supérieur s'accroît alors plus rapidement que le côté inférieur 1). Comme la force de turgescence a augmenté dans le côté supérieur par l'action de la pesanteur, cette différence de vitesse d'accroissement est très naturelle.

La courbure géotropique du côté inférieur nous apprend que l'action stimulatrice n'est pas bornée à la moitié supérieure, mais s'étend jusqu'au-dessous du plan médian. Le même résultat est fourni par les tiges et les entre-nœuds des Graminées, dont chacune des deux moitiés peut se courber géotropiquement 2). Si l'on fend lonitudinalement en quatre parties égales des entrenœuds de Graminées, et qu'on place ces parties horizontalement, de telle sorte que l'une se trouve en haut, une autre en bas, et deux latéralement, elles se courbent toutes géotropiquement vers le haut. M. Sachs a coupé, dans des tiges en voie d'accroissement, des lamelles médianes, composées de la moelle au milieu et de tissu cortical et d'épiderme aux deux côtés. Lorsqu'une pareille lamelle était placée horizontalement sur le côté étroit, c'est-à-dire de manière que les faces de section fussent verticales, elle se courbait géotropiquement vers le haut; quand on la posait horizontalement sur le côté large, elle n'éprouvait le plus souvent aucune action de la pesanteur. Des prismes de moelle isolés ne sont pas géotropiques.

Ces observations, quelque intérêt qu'elles présentent, ne sont pas encore assez complètes pour permettre une explication satisfaisante. Mais elles fraient le chemin par lequel on pourra parvenir, en premier lieu, à la connaissance de la distribution de l'action stimulatrice sur la section transversale.

Dans la description de mes expériences sur les vrilles, j'ai, pour plus de simplicité, toujours considéré le parenchyme dans son en-

1) *Arb. Würzb.*, Heft III, p. 471.
2) Sachs, *Lehrb. d. Bot.*, 4e éd., p. 822.

semble, comme le lieu où se développaient les forces de turgescence qui occasionnent les mouvements. Je n'ai pas touché à la question de savoir si dans toutes les cellules la force de turgescence augmentait également, ou s'il existait une différenciation sous ce rapport; la seconde hypothèse n'est pas invraisemblable, mais mes expériences n'apprennent rien à cet égard, et, pour les conclusions que j'en ai tirées, il n'était pas nécessaire que la question fût résolue. En traitant des autres mouvements, j'ai toujours parlé d'un accroissement de la force de turgescence au côté qui devenait convexe. Je regarde cette expression comme permise à titre de simplification, quoique l'action des stimulants se fasse sentir aussi bien au-dessus qu'au dessous du plan médian. Quant à savoir jusqu'où cette action se fait sentir, c'est un point qui naturellement ne peut être décidé que par l'étude de parties isolées.

En second lieu, les expériences de M. Sachs peuvent conduire à la solution d'un probléme beaucoup plus important. D'après ce que nous ont appris mes recherches, les actions stimulatrices augmentent la force de turgescence dans des groupes déterminés de cellules. Il ne peut en résulter une courbure que si ces cellules sont liées à d'autres, qui tendent moins fortement à se dilater. Or, imaginons qu'il soit possible d'isoler l'un de l'autre tous les tissus d'espèces différentes, et de les étudier dans cet état au point de vue de leur accroisement. La pesanteur agira-t-elle alors encore comme stimulant sur le parenchyme, ou bien faut-il, pour cela, que le parenchyme soit uni à d'autres tissus? En d'autres termes: L'action stimulatrice de la pesanteur s'exerce-t-elle sur chaque cellule particulière, ou bien exige-t-elle la superposition de plusieurs cellules, et peut-être de cellules différentes? Comment, dans la seconde alternative, l'action du stimulant dépend-elle de la nature de la superposition?

Si l'on réussissait à trouver une réponse expérimentale à ces questions, on arriverait peut-être à jeter du jour sur la différence entre les organes positivement et négativement géotropiques.

Différence entre les courbures des organes unicellulaires et les courbures auxotoniques des organes multicellulaires.

Dans les *Vaucheria*, les *Mucor*, les poils radicaux des *Marchantia* et autres organes unicellulaires, la cause des mouvements géotropiques et héliotropiques, comme l'a parfaitement démontré M. Sachs [1]), ne peut pas reposer sur un changement de la turgescence;

1) *Lehrbuch d. Botanik,* 4e éd., p. 813.

elle doit dépendre d'une variation de l'accroissement de la paroi cellulaire Dans les mouvements des organes en voie d'accroissement des plantes supérieures, notamment des plantes vasculaires, la différentiation en tissus tendus les uns activement, les autres passivement, apparaît comme un facteur important. Parmi les derniers, le collenchyme et xylème des faisceaux vasculaires jouent surtout un grand rôle; tous les deux se distinguent par la très faible énergie de leurs actes vitaux. Pour vaincre la résistance de ces parties, lors des courbures auxotoniques, il faut une force très considérable, et cette force est fournie par l'augmentation de la force de turgescence du tissu parenchymateux.

Dans les courbures auxotoniques d'organes multicellulaires, les stimulants agissent directement sur la production de matières osmotiques dans des cellules déterminées; de ce premier effet se déduisent ensuite, conformément à la théorie de M. Sachs, tous les autres phénomènes.

(*Archives Néerlandaises des sciences exactes et naturelles, T. XV 1880 p. 295.*)

SUR L'AFFINITÉ DES SUBSTANCES DISSOUTES POUR L'EAU.

Les recherches importantes exécutées dans ces dernières années par MM. de Coppet et Raoult sur la température de congélation des dissolutions aqueuses, ont établi, entre autres faits, que l'abaissement de cette température causé par des substances dissoutes de nature différente est réglé par des lois simples et générales. Ces lois s'appliquent aux abaissements atomiques ou moléculaires, c'est-à-dire aux abaissements produits par une molécule du corps dissous; car ce n'est qu'en étudiant le phénomène en question au point de vue de la théorie moléculaire que l'on aperçoit des relations simples entre des substances de composition différente.

M. de Coppet fut le premier à appliquer cette méthode dans ses recherches sur la constitution chimique des dissolutions salines [1]). Il limita ses études aux combinaisons inorganiques, et trouva pour celles-ci la loi suivante: Les substances faisant partie d'un même groupe chimique ont à peu près le même abaissement atomique du point de congélation.

M. Raoult a expérimenté en premier lieu sur les corps organiques [2]), et ses études l'ont conduit à la loi générale suivante: L'abaissement moléculaire du point de congélation a à peu près la même valeur pour tous les corps organiques. Cette valeur est d'environ 17 à 20, en moyenne 18,5, c'est-à-dire qu'une molécule (exprimée en grammes) dissoute dans 100 grammes d'eau abaisse le point de congélation de 18°5 C. Plus tard, la même valeur fut trouvée par lui pour le sulfate de magnésie et pour bon nombre d'acides inorganiques faibles [3]). Les acides minéraux forts, au contraire, les alcalis fixes et les sels des acides organiques et in-

1) De Coppet. Recherches sur la température de congélation des dissolutions salines. Annales de chimie et de physique, T. XXIII, p. 366; XXV, p. 502; XXVI, p. 98.

2) Comptes rendus, T. 94, p. 1117; Ann. de chim. et de phys. 5e série, T. 28, p. 133 (1883).

3) Comptes rendus, T. 96, p. 1653.

organiques ont un abaissement moléculaire qui est environ le double de la valeur précédemment indiquée, c'est-à-dire à peu près 37. Cependant, ces substances diffèrent entre elles très sensiblement, comme les chiffres en question varient pour elles entre 33 et 43. Le chlorure de baryum et de strontium, par exception, donnent environ 50 1).

L'abaissement du point de congélation est causé par l'affinité des substances dissoutes pour le dissolvant. C'est à cette même force qu'il faut attribuer le phénomène physiologique de la plasmolyse, ou la contraction du protoplasme vivant, dans les cellules végétales, sous l'action de dissolutions variées. A l'occasion de mes études sur ce phénomène, j'avais besoin de connaître les valeurs relatives des forces par lesquelles les solutions de diverses substances causent la plasmolyse. Ces valeurs ne sont autres que les affinités pour l'eau, sous les conditions règnantes dans mes cellules, c'est-à-dire dans des solutions très diluées et à la température ordinaire. Elles peuvent être étudiées directement à l'aide des phénomènes plasmolytiques.

Les expériences que j'ai entreprises dans ce but, et dont la méthode diffère si complètement de celle des savants physiciens nommés plus haut, ont conduit essentiellement à une confirmation des résultats obtenus par eux. Les lois qu'ils ont trouvées pour l'abaissement du point de congélation s'appliquent en général aussi aux phénomènes plasmolytiques, lesquels permettent cependant d'observer quelques relations que l'étude de la température de congélation n'a pas révélées jusqu'à présent.

Mes expériences reposent sur le principe suivant: Quand on place des cellules végétales adultes dans des dissolutions salines fortes, celles-ci leur enlèvent de l'eau et tendent par là à réduire leur volume. Les parois sont assez raides pour résister à cette influence, mais elles se laissent traverser facilement par le sel, et lui permettent d'agir sur le protoplasme. Celui-ci entoure le contenu liquide de la cellule, dont il suit aisément les différentes variations de volume, mais il ne se laisse pas traverser par les substances dissoutes, soit de son propre contenu, soit du liquide environnant. L'eau seule le traverse aisément, et le liquide cellulaire ordinairement dilué cédera une partie de son eau à la solution concentrée extérieure. Il en résulte une diminution du volume circonscrit par le protoplasme, et cette diminution, si minime

1) Comptes rendus, T. 95, p. 1030.

qu'elle puisse être au commencement, sera aisément visible au microscope à cause de l'immobilité de la paroi cellulaire. En effet, on voit bientôt le protoplasme quitter la paroi dans une place ou une autre, et s'en isoler de plus en plus, à mesure que la solution artificielle pénètre entre lui et la membrane de la cellule. Par la diminution de volume la concentration du liquide cellulaire augmente peu à peu, et bientôt elle est devenue assez grande pour faire équilibre à la solution artificielle extérieure. Alors la plasmolyse a atteint le plus haut degré possible dans la solution donnée.

Ceci posé, l'expérience a à rechercher la concentration la plus faible, qui soit encore à même de causer la moindre trace de plasmolyse. Car si on détermine cette concentration pour les mêmes cellules, mais avec des solutions de sels différents, on a évidemment des concentrations dans lesquelles ces sels attirent l'eau avec la même force.

J'appellerai ces concentrations *isotoniques*, parce qu'elles font équilibre à la même tension du contenu cellulaire (de *ἴσος*, egal, et *τονος*, tension). J'appellerai *coefficients isotoniques* les relations entre les concentrations des différentes substances dissoutes dans l'eau, et je prendrai comme unité, l'affinité d'une solution décinormale d'acide oxalique (contenant un équivalent dans les dix litres), laquelle est aujourd'hui généralement adoptée comme base de la méthode acidimétrique. Il va sans dire que les concentrations sont exprimées par molécules; elles indiquent les nombres relatifs des molécules du corps dissous dans un volume égal de solution.

Il découle de notre définition, *que les coefficients isotoniques expriment la grandeur relative de l'attraction excercée par une molécule d'un corps dissous sur l'eau environnante*, et que ce coefficient est égal à deux pour l'acide oxalique, parce qu'une molécule de cet acide contient deux équivalents.

Sur le même principe, j'ai fondé deux autres méthodes, qui cependant peuvent être regardées comme des variations sur le même thème, et qui conduisent aux mêmes résultats. Les coefficients isotoniques que j'ai déterminés par ces diverses méthodes se trouvent réunis dans la table suivante:

Coefficients isotoniques.

PREMIER GROUPE.

Sucre de canne	$C^{12} H^{22} O^{11}$	1.9
Sucre interverti	$C^{6} H^{12} O^{6}$	1.9

Acide malique	$C^4 H^6 O^5$	2.0
Acide tartrique	$C^4 H^6 O^6$	2.0
Acide citrique	$C^6 H^8 O^7$	2.0

DEUXIÈME GROUPE.

Azotate de potasse	$K Az O^3$	3.0
Azotate de soude	$Na Az O^3$	3.0
Chlorure de potassium	$K Cl$	3.0
Chlorure de sodium	$Na Cl$	3.05
Chlorhydr. d'ammon	$Az H^4 Cl$	3.0
Acétate de potasse	$K C^2 H^3 O^2$	3.0
Citrate acide de potasse	$K H^2 C^6 H^5 O^7$	3.05

TROISIÈME GROUPE.

Oxalate de potasse	$K^2 C^2 O^4$	3.9
Sulfate de potasse	$K^2 S O^4$	3.9
Phosphate de potasse	$K^2 H P O^4$	4.0
Tartrate de potasse	$K^2 C^4 H^4 O^6$	4.0
Malate de potasse	$K^2 C^4 H^4 O^5$	4.1
Citrate acide de potasse	$K^2 H C^6 H^5 O^7$	4.1

QUATRIÈME GROUPE.

Citrate neutre de potasse	$K^3 C^6 H^5 O^7$	5.0

CINQUIÈME GROUPE.

Malate de magnésie	$Mg C^4 H^4 O^5$	1.9
Sulfate de magnésie	$Mg S O^4$	2.0

SIXIÈME GROUPE.

Citrate de magnésie	$Mg^3 (C^6 H^5 O^7)^2$	3.9
Chlorure de magnesium	$Mg Cl^2$	4.3
Chlorure de calcium	$Ca Cl^2$	4.3

Si on accorde pour ces déterminations une erreur de 0,1, la concordance des nombres trouvés pour les différents membres de chaque groupe est aussi grande qu'on peut l'exiger, à l'exception seule des chlorures de calcium et de magnésium, dont je parlerai plus bas.

Nous pouvons donc formuler les lois empiriques suivantes:

1re Loi. *Les coefficients isotoniques ont pour les membres d'un même groupe chimique à peu près la même valeur.*

Cette loi s'applique à des solutions très diluées, d'un à deux

pour cent, ou environ. Les solutions plus fortes peuvent offrir des déviations sensibles.

2e Loi. *Les coefficients isotoniques des différents groupes sont à peu près entre eux comme* 2 : 3 : 4 : 5.

Si nous essayons de trouver une relation entre la composition chimique des substances étudiées et leur affinité pour l'eau, nous pouvons définir nos groupes de la manière suivante:

	Coëff. Isoton.
Première série	
Corps organiques	2
Deuxième série; sels alcalins	
2e groupe, un atôme d'alcali par molécule	3
3e groupe, deux atômes „ „ „	4
4e groupe, trois atômes „ „ „	5
Troisième série; sels alcalino-terreux	
5e groupe, dérivés d'une molécule d'acide	2
6e groupe, dérivés de deux molécules d'acide	4

Evidemment cette relation est très simple, et conduit à admettre une troisième loi:

3e Loi. *Chaque acide et chaque métal ont dans toutes leurs combinaisons le même coefficient isotonique partiel; le coefficient d'un sel est égal à la somme des coefficients partiels de toutes les parties composantes.*

Ces coefficients isotoniques partiels sont:

pour chaque atôme d'acide	2
pour chaque atôme d'un métal alcalin	1
pour chaque atôme d'un métal alcalino-terreux	0

De ces chiffres on peut déduire pour un sel donné quelconque, dans les limites de mes recherches, le coefficient isotonique. Celui-ci sera par exemple pour le sulfate de potasse $K^2SO^4 = 2 \times 1 + 2 = 4$, pour le sulfate de magnésie $MgSO^4 = 0 + 2 = 2$. De même pour les sels acides, par exemple l'oxalate de potasse $KHC^2O^4 = 1 + 2 = 3$.

Le coefficient partiel des acides organiques dans leurs sels est le même que celui de ces acides à l'état libre. Mais il est évident que cette règle ne s'applique pas aux bases alcalino-terreuses, et probablement non plus aux acides inorganiques forts et aux bases alcalines fixes. Jusqu'ici il ne m'a cependant pas été possible de les

étudier, faute d'une plante-indicateur convenable. Les expériences de M. Raoult sur l'abaissement du point de congélation des acides et des bases libres conduisent au même résultat. (Comptes-rendus, T. 96, p. 1653).

Il suit de notre troisième loi que *dans les doubles décompositions entre des sels neutres, des sels acides organiques et des acides organiques libres, la somme des affinités pour l'eau ne change pas*. Mais cette règle ne s'applique plus, si des acides libres forts, ou des bases libres entrent en jeu (M. Raoult. Comptes-rendus T. 96, p. 560).

Il nous reste à considérer la déviation observée dans les chlorides de calcium et de magnesium. Je soupçonne qu'elle est produite par la concentration encore trop grande de mes solutions (de 0,15 à 0,20 Aeq.) et qu'elle disparaîtrait, si on pouvait étudier ces sels dans des dissolutions beaucoup plus diluées, car des solutions beaucoup plus fortes de ces sels (de 1,5 Aeq. par litre) m'ont donné des déviations encore bien plus grandes que celles que j'ai citées dans la table.

Mes recherches s'étendent sur un nombre de combinaisons bien moindre que celles de M. Raoult. Je ne m'étais proposé que d'étudier les substances qui jouent quelque rôle dans les phénomènes de turgescence des cellules végétales. Néanmoins il est clair que mes résultats ne sont sur aucun point en contradiction avec ceux de mes prédécesseurs, mais qu'au contraire ils les confirment aussi bien dans les lois générales que dans les cas spéciaux. Pour appuyer ce dernier énoncé, je cite le fait constaté par M. Raoult, que l'abaissement moléculaire du point de congélation est le même pour le sulfate de magnésie que pour les substances organiques; la même chose se trouve vraie, comme l'indique notre table, pour leurs coefficients isoniques. L'exception offerte par les chlorides précités confirme même ces résultats, car cette déviation fut observée aussi dans les abaissement moléculaires du point de congélation.

L'affinité des substances dissoutes dans l'eau pour leur dissolvant n'a été déterminée que relativement par mes expériences. J'ai essayé d'en découvrir la grandeur absolue, mais je n'ai pas encore fait d'expériences directes à ce sujet. Un calcul de quelques données antérieures sur la grandeur de la tension dans de jeunes cellules, comparée à l'affinité de leur contenu pour l'eau, m'a cependant appris qu'il est permis de considérer cette force pour l'unité de nos coefficients isotoniques, et pour $H = 1$ gramme dans les dix litres, comme à peu près égale à une atmosphère. C'est-à-dire qu'une dis-

solution qui contient une demi-molécule, exprimée en grammes, d'une substance organique, dans les dix litres, peut, en absorbant de l'eau, vaincre une résistance d'environ une atmosphère. De la même manière on peut calculer cette valeur pour les autres substances comprises dans notre table.

(*Mémoires de la Société nationale des Sciences naturelles et mathématiques de Cherbourg, T. XXIV 1883, p. 88.*)

UEBER DEN ANTHEIL DER PFLANZENSÄUREN AN DER TURGORKRAFT WACHSENDER ORGANE.

In der Botanischen Zeitung 1879, S. 847 habe ich es versucht, wahrscheinlich zu machen, dass den Pflanzensäuren und ihren Salzen eine wesentliche Rolle beim Turgor zukomme. Die Erfahrungen, die ich seitdem über diesen Gegenstand gesammelt habe, haben dieser Ansicht die gewünschte experimentelle Grundlage gegeben, zugleich aber gezeigt, dass die genannten Körper keineswegs so ausschliesslich als Träger der Turgorkraft betrachtet werden dürfen, als ich damals meinte. Die Argumente, auf die ich mich vor vier Jahren, in Ermangelung besserer, stützen musste, und welche zu dieser Entwickelung meiner Ansicht führten, haben sich inzwischen zum Theil als unbegründet erwiesen, und mich gezwungen, meine Vorstellung auf ihren eigentlichen Kern zu beschränken.

Um eine sichere Grundlage zu erhalten, habe ich zunächst die Affinität der wichtigsten im Zellsaft gelösten Verbindungen für Wasser nach einer directen Methode bestimmt; es hat sich dabei für jede untersuchte Substanz ein Coëfficient ermitteln lassen, mittels dessen man sehr leicht ihren Antheil an der Turgorkraft berechnen kann, wenn nur der Gehalt des Zellsaftes an der betreffenden Substanz durch eine chemische Analyse bekannt ist. Indem ich für diese sogenannten isotonischen Coëfficienten und die Methode ihrer Bestimmung auf einen anderen Aufsatz 1), und auf meine bald erscheinende ausführliche Abhandlung 2) verweise, möchte ich hier dasjenige kurz hervorheben, was sich bis jetzt über den Antheil der Pflanzensäuren und ihrer Salze an der Turgorkraft ermitteln liess.

Organische Säuren fehlen, wie es scheint, keiner wachsenden Pflanzenzelle; sie sind vielleicht die einzigen, immer vorhandenen Träger der Turgorkraft. Nur selten findet man sie aber im freien Zustande, gewöhnlich sind sie an Basen gebunden, und zwar der Art, dass sie zum Theil neutrale, zum Theil saure Salze bilden.

1) Ueber die Anziehung zwischen gelösten Stoffen und Wasser in verdünnten Lösungen. *Opera* II S. 113.

2) Eine Methode zur Analyse der Turgorkraft.

Die Basen sind theils anorganische, theils organische; zu den ersteren gehören vorwiegend Kali und Kalk, zu den letzteren viele stickstoffhaltige organische Verbindungen.

Der Gehalt an diesen Säuren ist keineswegs ein constanter. Er wechselt je nach den Arten und den verschiedenen äusseren Einflüssen, welche das Wachsthum beherrschen, und hängt ferner in sehr wesentlicher Weise vom Alter der betreffenden Gewebepartien ab. Im Allgemeinen herrschen die Pflanzensäuren und ihre Verbindungen in den ganz jungen, sich bereits rasch streckenden Zellen vor; mit zunehmendem Alter treten sie aber allmählich in den Hintergrund. In rasch wachsenden Organen bestimmte ich den Antheil der Pflanzensäuren und ihrer Salze an der Turgorkraft im Mittel aus zahlreichen Versuchen zu nahezu der Hälfte der ganzen Kraft. In nahezu ausgewachsenen oder völlig erwachsenen Theilen ist dieser Antheil meist bedeutend kleiner; in den allerjüngsten, sich streckenden Geweben aber wahrscheinlich merklich grösser.

Einige Beispiele mögen dieses erläutern. Zunächst betrachten wir den gewöhnlichen Fall, dass der Zellsaft keine freien Säuren enthält und dementsprechend nur schwach sauer reagirt. Diese Reaction rührt bekanntlich von den sauren Salzen her. Ich bestimmte nun einerseits den Antheil der sauren und neutralen pflanzensauren Salze anorganischer Basen an der Turgorkraft, andererseits dieselbe Grösse für den an organische Basen gebundenen Theil derselben Säuren. Den ersteren Werth fand ich z. B. in wachsenden Blattstielen von *Heracleum pubescens* zu 21—27 Proc., in jungen Sprossgipfeln von *Carum Carvi* zu 30 Proc. und von *Delphinium azureum* zu 35 Proc. Derjenige Theil der Pflanzensäuren aber, der an organische Basen gebunden war, lieferte z. B. in den Sprossgipfeln von *Tropaeolum majus* 11 Proc. der Turgorkraft, in den jungen Blattstielen von *Rheum hybridum* 16 Proc., und im epicotylen Gliede junger Keimpflanzen von *Phaseolus multiflorus* 19 Procent.

Die mitgetheilten Zahlen sind mit verschiedenen Arten gewonnen; die Resultate würden aber nicht wesentlich anders ausgefallen sein, wenn ich für die nämlichen Spossgipfel den Antheil der durch organische und der durch anorganische Basen gebundenen Säuren bestimmt hätte. Die Mittelzahlen für beide Arten von Verbindungen dürfen also ohne Weiteres zu einander addirt werden, um den gesammten Antheil der Pflanzensäuren und ihrer Salze an der Turgorkraft zu erhalten.

Beim Erreichen des ausgewachsenen Zustandes sind die organischen Basen zum grossen Theil als Nährstoffe verbraucht und die Salze der metallischen Basen durch die stetige Zunahme des Volumens derart verdünnt, dass in diesem Momente der Antheil der pflanzensauren Salze an der Turgorkraft häufig nur noch 15—20 Proc. beträgt.

Als Beispiele von Pflanzen, in deren Saft ein bedeutender Theil der Säure sich im freien Zustande befindet, untersuchte ich die Gattungen *Rheum* und *Begonia*. In beiden ist die organische Säure vorwiegend Oxalsäure, und theilt sie den Geweben eine sehr stark saure Reaction mit. Nahezu ausgewachsene Blattstiele dieser Gewächse, welche ich analysirte, lieferten mir für den procentischen Antheil der freien Säure und der betreffenden Salze an der Turgorkraft folgende Zahlen:

	Rheum officinale.	*Rheum hybridum.*	*Begonia Rex.*
Freie Oxalsäure	16 Proc.	42,0 Proc.	29,2 Proc.
Saures oxalsaures Kali . . .	18 „	17,7 „	14,2 „
Oxalsauer Kalk und Magnesia .	3,5 „	2,6 „	4,2 „
Summa	37,5 Proc.	62,3 Proc.	47,6 Proc.

Aehnliche Zahlen erhielt ich bei mehreren anderen Analysen; den an organische Basen gebundenen Theil der Säure bestimmte ich in diesen Versuchen nicht.

Die osmotisch wirksamen Stoffe, welche in wachsenden Pflanzentheilen die Turgorkraft bedingen, sind also zu einem wesentlichen Theile die Pflanzensäuren. Sie üben diese Function bisweilen im freien Zustande, meist aber als saure oder neutrale Salze aus.

Der früher von mir als wahrscheinlich aufgestellte erste Satz (l. c. S. 851) über den Antheil der Pflanzensäuren an der Turgorkraft hat sich also, wenn auch mit gewissen Einschränkungen, bestätigt.

Der zweite Satz, dass die chemische Spannkraft der Nährstoffe und des Sauerstoffes in die mechanische Spannkraft der Säuren umgesetzt wird, lässt sich für die Oxalsäure in sehr einfacher Weise beweisen. Die Glucose und die Oxalsäure haben, wie ich fand, für dieselbe Anzahl von Molekülen dieselbe Affinität zu Wasser. Nun aber kann ein Molekül Glucose ($C_6H_{12}O_6$) unter Aufnahme von Sauerstoff, und unter der Voraussetzung, dass sämmtlicher Kohlenstoff in die Oxalsäure übergehe, offenbar 3 Moleküle dieser Säure ($C_2H_2O_4$) liefern. Bei einem solchen Processe

findet also eine Zunahme der Turgorkraft im Verhältniss von 1 : 3 statt. Bei der Aepfelsäure, welche wohl die allgemeinste organische Säure in wachsenden Pflanzentheilen ist, ist diese Zunahme eine um die Hälfte geringere.

Neben den Pflanzensäuren betheiligen sich selbstverständlich auch die übrigen gelösten Inhaltsstoffe der Zellen and der Turgorkraft. Jedoch scheint unter diesen keiner so constant einen wesentlichen Theil jener Kraft zu liefern, wie die organischen Säuren. Der wichtigste und verbreitetste unter ihnen ist ohne Zweifel die Glucose, welche gar häufig 10—25 Proc. der Turgorkraft liefert. Nicht selten fehlt sie aber den wachsenden Zellen ganz, in anderen Fällen bildet sie dagegen den Hauptbestandtheil des Zellinhaltes. So fand ich, um extreme Zahlen zu nennen, ihren Antheil an der Turgorkraft in wachsenden Blattstielen von *Heracleum Spondylium* zu 50—60 Proc., in den Blumenblättern der Rose sogar bis 80 Procent.

Die anorganischen Salze kommen in den meisten jugendlichen Geweben nur in sehr geringer Menge vor, und liefern gewöhnlich einen sehr untergeordneten Beitrag zur Turgorkraft. In bestimmten Pflanzen werden einzelne Salze aber in ganz erheblichen Mengen angehäuft, derart, dass sie beim Eintrocknen von Tropfen des Saftes auf dem Objectträger auskrystallisiren. Als Beispiele nenne ich den Salpeter 1), dessen Antheil an der Turgorkraft junger Organe ich für die Sprossgipfel von *Helianthus tuberosus* zu 40 Proc. bestimmte, und das Chlorkalium, welches in den wachsenden Blattstielen von *Gunnera scabra* 52—56 Proc. jener Kraft lieferte.

Aus diesen Thatsachen geht hervor, dass die Turgorkraft nicht allein von Stoffen geliefert wird, welche in den Zellen selbst durch chemische Umwandlungen aus anderen gebildet werden, sondern auch, und zwar oft zu einem grossen Theile von solchen, welche unverändert von aussen aufgenommen und in den Zellen angehäuft werden. Diese Accumulation 2) spielt beim Turgor ohne Zweifel eine sehr wichtige Rolle.

Zum Schlusse werfen wir noch einen Blick auf die beiden wichtigsten anorganischen Basen, mit denen die Pflanzensäuren in

1) Ueber das Vorkommen und den Nachweis von Salpeter in Pflanzen vergleiche man Hans Molisch, Ueber den mikrochemischen Nachweis von Nitraten Berichte d. d. bot. Ges. 1883. I. S. 150.

2) Vergl. Wachsthumsgeschichte der Zuckerrübe. Landw. Jahrb. Bd. VIII. 1879. S. 437 ff.

den meisten Gewächsen verbunden sind, und auf deren Bedeutung für die Turgorkraft. Denn die Verbreitung und Wanderung des Kaliums und des Calciums in der Pflanze stehen zu dieser Bedeutung in innigster Beziehung, wie aus den folgenden Thatsachen und Erörterungen hervorgehen wird.

Schon Saussure lehrte, und zahlreiche spätere Forscher bestätigten, dass das Kalium vorwiegend in den jungen Organen zu finden sei, mit zunehmendem Alter aber allmählich verschwinde, und durch Kalk ersetzt werde. Je älter ein Organ wird, um so mehr häuft sich in seinen Zellen der Kalk an. Die bisher unbekannte Ursache dieses entgegengesetzten Verhaltens des Kaliums und des Calciums liegt, wenigstens zum Theil, in ihrer völlig verschiedenen Bedeutung für den Turgor. Das Kalium erhält die Turgorkraft der Pflanzensäuren, wenn es sich mit ihnen zu Salzen verbindet, das Calcium vermag solches nicht. Ein Molekül neutrales äpfelsaures Kalium ($K_2C_4H_4O_5$) zieht Wasser mit genau der doppelten Kraft an, wie 1 Molekül freier Aepfelsäure ($C_4H_6O_5$), während die Affinität eines Moleküls äpfelsauren Kalkes genau derjenigen der freien Aepfelsäure gleich ist. Bei der Neutralisation dieser Säure durch von aussen in den Zellsaft aufgenommenes Kali findet also eine Steigerung der Turgorkraft im Verhältniss von 1 : 2 statt, während die Aufnahme von Kalk in die Zellen für den Turgor Nichts beiträgt. Nun bedürfen bekanntlich vorwiegend die wachsenden Organe des Turgors; in älteren tritt dessen Bedeutung immer mehr zurück. Dementsprechend häuft die Pflanze das Kali vorzugsweise in den ersteren, den Kalk aber in den letzteren an.

Verfolgt man den Gegensatz zwischen dem Verhalten des Kaliums und des Calciums in der Pflanze im Detail, so kommen immer mehr Beziehungen zur Turgorkraft zum Vorschein. Von denselben will ich nur noch Eine hervorheben. Das für diese Kraft gleichgiltige Calcium wird in grosser Menge in fester Form an solchen Stellen abgelagert, wo es dem Stoffwechsel möglichst entzogen ist 1), oder in Blättern und Rinde angehäuft, und mit diesen Theilen abgeworfen. Das Kalium dagegen wird vor dem Tode grossentheils aus den älteren Geweben entfernt und in die jüngeren Theile übergeführt, um hier von Neuem wichtige Dienste zu leis-

1) Ueber die Bedeuting der Kalkablagerungen in den Pflanzen. Landw. Jahrb. Bd. X. 1881. S. 53.

ten. Während die Pflanze sich vom überflüssig aufgenommenen Kalke möglichst zu befreien sucht, ist sie mit ihrem Kalium möglichst sparsam.

Die Bedeutung der Pflanzensäuren für den Turgor wachsender Organe liegt somit zum Theil in ihrem eigenen Antheil an dieser Kraft, zu einem nicht unwesentlichen Theil aber auch darin, dass sie die Aufnahme des durch die Wurzeln in der Form verschiedener Salze aufgenommenen Kaliums in die jugendlichen Zellen vermitteln, und so deren bedeutende wasseranziehende Kraft für den Turgor dieser Zellen verwerthen.

Weitere Untersuchungen über die hier berührten Fragen behalte ich mir vor.

(Botanische Zeitung, 41. Jahrgang 1883 S. 849.)

UEBER DIE ANZIEHUNG ZWISCHEN GELÖSTEN STOFFEN UND WASSER IN VERDÜNNTEN LÖSUNGEN.

Engelmann's Untersuchungen über die Sauerstoff-ausscheidung aus grünen Pflanzentheilen nach seiner Bacterienmethode haben der Ueberzeugung festen Boden gewonnen, dass zur Lösung mancher physikalischer oder chemischer Probleme physiologische Methoden nicht nur denselben, sondern in bestimmten Fällen sogar einen grösseren Werth haben können, als rein physikalische oder chemische. Seine Methode gestattet eine viel schärfere Beobachtung der fraglichen Processe und führt zu einer klareren Einsicht in ihre ursächlichen Beziehungen, als mittelst der früheren Verfahrungsweisen erreicht werden konnte.

Auf den folgenden Seiten mache ich den Versuch ein anderes physikalisches Problem nach einer physiologischen Methode zu behandeln.

Es handelt sich um die Frage nach der relativen Affinität in Wasser gelöster Stoffe zu ihrem Lösungsmittel, in verdünnten Lösungen und bei gewöhnlicher Temperatur.

Die Beantwortung dieser so zugespitzen Frage war für die Fortsetzung meiner Studien über den Turgor [1]) und dessen Bedeutung für das Wachsthum der Pflanzen durchaus unerlässlich. Die Physik hat bis jetzt auf diese Frage keine für meine Zwecke ausreichende Antwort gegeben, und somit war ich gezwungen, selbst die erforderlichen Methoden auszubilden, um die genannten Affinitäten messen zu können.

Ehe ich zur Beschreibung meiner Methoden und zur Mittheilung meiner Resultate schreite, sei es mir erlaubt, zu erörtern, weshalb es für mich nothwendig war, jene Affinitäten zu kennen. Es wird sich daraus die Berechtigung meiner Frage ergeben, zugleich aber die Wahl der von mir untersuchten Stoffe, und die Grenze, welche ich mir gesteckt habe, erklären. Denn ich habe

---

1) Turgor heisst bekanntlich die osmotische Spannung zwischen Wand und Inhalt in der lebendigen Pflanzenzelle.

meine Aufgabe nur soweit gelöst, als grade für jenen Zweck erforderlich war.

Die typische Pflanzenzelle besteht, wenn sie das allererste Jugendstadium verlassen hat, aus dem Protoplasma, dem Zellsaft und der Wand. Letztere ist allseitig geschlossen, und auf ihrer Innenseite lückenlos vom Protoplasma, das meist nur eine dünne Schicht bildet, ausgekleidet. Wand und Protoplasma sind, wenigstens solange die Zelle noch wächst, sehr dehnbar und elastisch. Der Zellsaft ist eine wässerige Flüssigkeit, welche verschiedene Substanzen, wie Zucker, pflanzensaure Salze, anorganische Bestandtheile u. s. w. gelöst hält. Diese ziehen Wasser aus der Umgebung der Zelle an sich, vergrössern das Volumen des Inhaltes und versetzen die Wandungen in den gespannten Zustand: den Turgor. Fortwährend scheidet das Protoplasma in den Zellsaft osmotisch wirksame Stoffe ab, oder vermittelt es chemische Umwandlungen, durch welche häufig Körper mit geringer Affinität zu Wasser in solche mit grosser Wasser-anziehender Kraft umgesetzt werden. Diese Thätigkeit des Protoplasma regelt die Geschwindigkeit des Wachsthums, und vermittelt, wie ich früher zeigte, die Reizbewegungen [1]) wachsender Organe, sie gehört somit zu den wichtigsten Processen des Pflanzenlebens.

Um aber diesen äusserst complicirten Vorgang in seine einzelnen Factoren zerlegen, und dadurch einem tiefer eindringenden Studium zugänglich machen zu können, war es selbstverständlich in erster Linie nothwendig, zu wissen, welche Verbindungen in den Zellsaft gebracht, oder darin gebildet werden, und welchen Antheil diese an der gesammten Wasser-anziehenden Kraft des Zellsaftes nehmen. Die Statik muss der Dynamik vorausgehen. Das Studium der Bedeutung der einzelnen Inhaltsstoffe für Wachsthum und Bewegungen ist ohne die Kenntniss der Affinität jener Stoffe zu Wasser einfach unmöglich.

Die chemische Analyse des Zellsaftes lehrt uns die darin gelösten Stoffe in ihren relativen und absoluten Mengen kennen. Um daraus aber auf ihren Antheil an der Turgorkraft, d. h. an der gesammten Wasser-anziehenden Kraft dieses Zellsaftes schliessen zu können, muss für jede Verbindung ein Coëfficient gegeben sein, der ihre Affinität zu Wasser anweist. Diese Coëfficienten für die wichtigsten in den Säften der Pflanzenzellen gelösten Stoffe zu

---

1) Over de bewegingen der ranken van Sicyos. *Opera* I S. 519.

bestimmen, war also meine Aufgabe. Sind diese bekannt, so braucht man offenbar nur die durch die chemische Analyse gegebenen Zahlen für jede Substanz mit ihrem eigenen Coëfficienten zu multipliciren um deren Antheil an der Turgorkraft zu finden.

Beschreibung der Methoden.

I. *Plasmolytische Methode.* Im Jahre 1854 hat Pringsheim 1) gelehrt, dass wenn man schwache Lösungen unschädlicher Substanzen langsam auf lebendige Pflanzenzellen einwirken lässt, das Protoplasma sich langsam von der Zellhaut zurückzieht. Bedingung dazu ist selbstverständlich, dass die eindringende Lösung der Zelle Wasser entziehe, das Volum ihres Inhaltes kleiner mache, und diese Bedingung wird erfüllt sein, wenn die äussere Lösung eine grössere Affinität zu Wasser hat, als der Zellsaft. Pringsheim betonte die Vortheile der Anwendung verdünnter Lösungen, und der langsamen Einwirkung; nur diese gestatteten die Erscheinung von Anfang an zu verfolgen; die bis dahin übliche Anwendung stärkerer Reagentien liess nur den Endzustand erkennen. Grade diese langsame Einwirkung schwacher Lösungen auf lebende Zellen, und die dadurch hervorgerufene, seitdem *Plasmolyse* genannte Abhebung des lebendigen Protoplasten von der Zellhaut, bildet die Grundlage für die Eine unserer Methoden. Ich nenne diese deshalb die plasmolytische Methode.

Das Protoplasma lässt während der Plasmolyse zwar das Wasser durch sich hindurchgehen, nicht aber die gelösten Stoffe des Zellinhaltes oder der umgebenden Lösung, vorausgesetzt, dass diese für das Leben der Zelle unschädlich ist. Naegeli's bahnbrechende Untersuchungen über diesen Gegenstand sind jedem bekant 2). In Zellen mit gefärbtem Zellsaft, zumal solchen mancher Oberhäute, ist es nun leicht, bei etwa 100-facher Vergrösserung den allerersten Anfang der Plasmolyse, wo das Protoplasma nur an einer kleinen Stelle die Wand verlässt, mit Sicherheit zu beobachten. Sucht man nun für dieselben Zellen diejenige Concentration der Lösungen verschiedener Stoffe aus, welche grade diesen Anfang der Plasmolyse bedingen, so entziehen diese den Zellen offenbar

---

1) N. Pringsheim, Untersuchungen über den Bau und die Bildung der Pflanzenzelle. Berlin 1854.

2) C. Naegeli, Primordialschlauch, in dessen Pflanzenphys. Unters. Heft I, 1855, S. 1.

mit genau derselben Kraft Wasser. Ich nenne diese Concentrationen derhalb *isotonische* (ἴσος gleich, τονος Spannung).

Es gilt nun aus diesen, durch die Versuche direct zu ermittelnden Werthen, die gewünschten Coëfficienten abzuleiten. Dazu ist in erster Linie erforderlich, die Concentrationen nicht nach Gewichtsprocenten, sondern nach Molecülen berechnet, auzuwenden. Es ist also anzugeben, wie viele Molecüle (H = 1 Gramm) jede Lösung im Liter enthält. In dieser Weise geben also die isotonischen Concentrationen ohne Weiteres an, wie viele Molecüle der einen Substanz mit derselben Kraft Wasser anziehen, wie eine bestimmte Anzahl Molecüle einer anderen Verbindung. Die Verhältnisse zwischen jenen Concentrationen sind also ein Maass für die Anziehung der fraglichen Substanzen für je Ein Molecül. Wählt man dabei als Einheit die Affinität einer zehntelnormalen Lösung von Oxalsäure, wie sie nach Mohr die Grundlage der Alcalimetrie bildet, so weisen jene Verhältnisse die Grösse der Affinität zu Wasser für je Ein Molecül der betreffenden Körper an, wenn jene Grösse für Ein Aequivalent Oxalsäure = 1, also für Ein Molecül Oxalsäure = 2 gesetzt wird. Es braucht zu diesen Berechnungen nur der Annahme, dass diese Affinitäten innerhalb der Grenzen der Versuche und der Berechnungen der Concentration proportional sind, und von der Richtigkeit dieses Satzes habe ich mich durch besondere Experimente überzeugt.

Aus diesen Erwägungen geht nun die folgende Definition hervor:

Isotonische Coëfficienten nenne ich diejenigen Zahlen, welche die Affinität je eines Molecüles einer gelösten Substanz zu Wasser in verdünnter wässeriger Lösung angeben, wenn die Affinität eines halben Molecüles Oxalsäure als Einheit angenommen wird.

Diese Einheit kommt, nach einigen vorläufigen, jedoch nur annähernden, Berechnungen, nahezu einer Atmosphere gleich. Das heisst, dass eine Zelle, wenn ihr Zellsaft mit derselben Kraft Wasser anzieht, wie die Lösung von 0.1 Aeq Oxalsäure, eine osmotische Spannung der Wandung von etwa einer Atmosphere hervorrufen kann.

II. *Methode der Gewebespannung.* Spaltet man wachsende Sprossgipfel der Länge nach in vier gleiche Theile, so krümmen sich diese im Augenblicke der Trennung nach aussen. Legt man nun einen solchen Kreuzstreifen in Wasser, und einen anderen in eine starke Salzlösung, so nimmt jener Wasser auf, und erhöht den Grad seiner Biegung bedeutend, während dieser Wasser ver-

liert, und seine Krümmung einbüsst. Bringt man Streifen in Lösungen verschiedener Concentration, so ist es leicht, jene aufzusuchen, in der weder Zu-, noch Abnahme der Krümmung stattfindet. In dieser Stärke zieht das Salz also mit derselben Kraft Wasser an, wie das Schwellgewebe des Streifens. Bestimmt man diese Concentration für verschiedene Salze, so stellen sie offenbar isotonische Concentrationen dar, und ihre in obiger Weise berechneten Verhältnisse geben uns somit die isotonischen Coëfficienten.

Diese Methode giebt genau dieselben Resultate wie die erstere, so lange man mit relativ rasch diffundirenden Stoffen arbeitet. Bei geringer Diffusionsgeschwindigkeit dringt die gelöste Substanz nicht rasch genug in das Gewebe ein, und die isotonischen Coëfficienten fallen dann dementsprechend etwas zu niedrig aus. Solche Verbindungen sollten also nur nach der ersten Methode untersucht werden.

Versuche und Resultate.

Nach beiden Methoden habe ich eine Reihe von Versuchen ausgeführt, um für die wichtigsten Inhaltsstoffe der Pflanzenzellen die isotonischen Coëfficienten zu ermitteln.

Indem ich für die Einzelheiten der Ausführung der Methoden, sowie für die Détails der Versuche auf eine ausführliche Abhandlung verweise, welche demnächst in Pringsheim's Jahrbüchern (Bd. XIV) veröffentlicht werden soll, theile ich hier nur die erhaltenen Resultate mit. Die folgende Tabelle enthält die nach beiden Methoden ermittelten isotonischen Coëfficienten. Diese gelten für Lösungen von etwa 1—2 pCt., bei stärkeren Concentrationen können merkliche Abweichungen eintreten.

Isotonische Coëfficienten.

Gruppe I.

		Isoton. Coëff. nach der plasm. Meth.
Rohrzucker	$C_{12}H_{22}O_{11}$	1.9
Invertzucker	$C_6H_{12}O_6$	1.9
Aepfelsäure	$C_4H_6O_5$	2.0
Weinsäure	$C_4H_6O_6$	2.0
Citronensäure	$C_6H_8O_7$	2.0

		Isoton Coëff. nach der plasm. Methode.	Isoton. Coëff. nach d. Meth. d. Gewebespannung.
Gruppe II.			
Salpetersaures Kalium	$KN\,O_3$	3.0	
Salpetersaures Natrium	$Na\,NO_3$	3.0	
Chlorkalium	$K\,Cl$	3.0	
Chlornatrium	$Na\,Cl$		3.05
Chlorammonium	$NH_4\,Cl$	3.0	
Essigsaures Kalium	$KC_2\,H_3\,O_2$	3.0	
Doppeltsaures Citron. Kalium .	$KH_2\,C_6\,H_5\,O_7$	3.05	
Gruppe III.			
Oxalsaures Kalium.	$K_2\,C_2\,O_4$		3.9
Schwefelsaures Kalium	$K_2\,SO_4$	3.9	3.9
Phosphorsaures Kalium	$K_2\,H\,PO_4$		4.0
Weinsaures Kalium	$K_2\,C_4\,H_4\,O_6$		4.0
Aepfelsaures Kalium.	$K_2\,C_4\,H_4\,O_5$		4.1
Einfachsaures Citron. Kalium .	$K_2\,HC_6\,H_5\,O_7$	4.1	
Gruppe IV.			
Citronensaures Kalium	$K_3\,C_6\,H_5\,O_7$	5.0	
Gruppe V.			
Aepfelsaures Magnesium	$Mg\,C_4\,H_4\,O_5$	1.9	
Schwefelsaures Magnesium . . .	$Mg\,SO_4$	2.0	
Gruppe VI.			
Citronensaures Magnesium . . .	$Mg_3(C_6H_5O_7)_2$	3.9	
Chlormagnesium	$Mg\,Cl_2$	4.3	
Chlorcalcium	$Ca\,Cl_2$	4.3	

Die Zahlen sind, mit wenigen Ausnahmen, Mittelzahlen aus einer grösseren oder kleineren Reihe von Versuchen. Die Differenzen zwischen den einzelnen Versuchen einer Reihe sind in der Regel nur klein, jedoch so, dass sie einen Fehler von etwa 0.1 im Resultate nicht ausschliessen. Eine grössere Genauigkeit beanspruchen unsere Coëfficienten also nicht [1]). Trägt man diesem

1) Die grössere Abweichung der beiden zuletzt genannten Chloride kann nicht einem Beobachtungsfehler zugeschrieben werden; ich komme später auf diesen Punkt zurück.

Umstande Rechnung, so lässt sich das Ergebniss unserer Tabelle in folgende drei Sätze zusammenfassen:

1er *Satz. Die isotonischen Coëfficienten haben für die Glieder einer nähmlichen chemischen Gruppe nahezu denselben Werth.*

2er *Satz. Die isotonischen Coëfficienten der einzelnen chemischen Gruppen verhalten sich zu einander nahezu wie* 2 : 3 : 4 : 5.

Zwischen der chemischen Zusammensetzung und dem isotonischen Coëfficienten einer Verbindung besteht ferner eine sehr einfache Beziehung, wie sich am leichtesten ergeben wird, wenn wir den gemeinsamen Character der Glieder einer und derselben Gruppe kurz hervorheben.

Wir finden dann folgende Eintheilung:

	Isot. Coëff.
1e Abtheilung. Eine Gruppe Organische metallfreie Verbindungen	2
2e Abtheilung. Salze der Alcali-metalle:	
2e Gruppe. Mit je einem Atom Alcali im Molecül. . .	3
3e „ Mit je zwei Atomen „ „ „ . . .	4
4e „ Mit je drei „ „ „ „ . . .	5
3e Abtheilung. Salze der Erd-alcaliën:	
5e Gruppe. Mit je einem Atom Säure im Molecül. . .	2
6e „ Mit je zwei Atomen „ „ „ . . .	4

Die Ursache dieser äusserst einfachen Beziehung ist offenbar die folgende:

3er *Satz. Jede Säure und jedes Metall hat in allen Salzen denselben partiellen isotonischen Coëfficienten; der Coëfficient des Salzes ist gleich der Summe der partiellen Coëfficienten aller seiner Theile.*

Diese partiellen isotonischen Coëfficienten sind:

für jedes Atom Säure	2
für jedes Atom eines Alcali-metalles . . .	1
für jedes Atom eines Erd-alcali-metalles . .	0

Innerhalb der Grenzen meiner Untersuchung kann man hieraus für jedes beliebige Salz den isotonischen Coëfficienten ableiten. Zum Beispiel für:

$$K_2\,SO_4 = 1 \times 2 + 2 = 4$$
$$Mg\,SO_4 = 0 + 2 = 2$$

In derselben Weise für Salze, welche offenbar zu denselben che-

mischen Gruppen gehören, welche ich aber nicht untersucht habe, z. B. für:

$$(NH_4)_2SO_4 = 1 \times 2 + 2 = 4$$

Die Regel gilt nicht nur für neutrale, sondern auch für saure Salze z. B. für saures oxalsaures Kalium:

$$KHC_2O_4 = 1 + 2 = 3$$

Eine wichtige Frage ist diese, ob der partielle isotonische Coëfficient einer Säure oder eines Metalles derselbe ist wie der isotonische Coëfficient derselben Säure oder der betreffenden Basis im freien Zustande. Für die organischen Säuren ist dies der Fall, wie ein Blick auf die Tabelle lehrt. Für den Kalk und die Magnesia ist dem aber offenbar nicht so, weil diese Basen im freien Zustande unmöglich eine Affinität zu Wasser = 0 haben können. Für die fixen Alcalien und die stärkeren Säuren vermuthe ich ebenfalls eine grössere Anziehung zu Wasser im freien Zustande als in ihren Verbindungen; jedoch habe ich bis jetzt keine Pflanze finden können, welche diese dem Leben so äusserst gefährlichen Stoffe hinreichend lange ertrüge, um deren Coëfficienten bestimmen zu können.

Aus unserem dritten Satze folgt, *dass bei sämmtlichen kreuzweisen Umsetzungen zwischen neutralen Salzen, sauren organischsauren Salzen und freien organischen Säuren, die Summe der Affinitäten zu Wasser eine unveränderliche ist.* Sind starke Säuren oder Basen im freien Zustande mit im Spiele, so gilt der Satz nicht mehr. In Pflanzensäften ist dieses aber nicht der Fall, und auf sie hat der Satz also volle Anwendung. Diese liegt zumal darin, dass es für die Berechnung der Affinitäten von gemischten Stoffen zu ihrem Losüngswasser gleichgültig ist, wie die vorhandenen Basen über die verschiedenen Säuren vertheilt sind; die chemische Analyse braucht also nur die Mengen der Säuren und der Basen, jede für sich, nachzuweisen.

Zum Schlusse habe ich noch Einiges über die bei dem Chlorcalcium und dem Chlormagnesium beobachtete Abweichung nachzutragen. Ich vermuthe, dass sie von der Concentration der angewandten Flüssigkeiten abhängt und bei bedeutend stärkerer Verdünnung verschwinden würde. Meine Methode liess nicht zu dieses direct zu prüfen; dagegen habe ich mich überzeugt, dass bei bedeutend stärkeren Lösungen dieser Salze jene Abweichung eine viel grössere wird, und dass die Concentration somit jedenfalls nicht ohne Einfluss auf sie ist.

Beziehungen der isotonischen Coëfficienten zu den molecularen Gefrierpunktserniedrigungen.

Die Erniedrigung des Gefrierpunktes von Wasser durch darin gelöste Substanzen beruht offenbar auf derselben Affinität dieser Stoffe zu Wasser, wie die Erscheinungen, auf welche sich meine Methoden gründen. Es ist deshalb zu erwarten. dass beide im Allgemeinen von denselben Gesetzen beherrscht werden, und es lohnt sich somit beide hier mit einander zu vergleichen.

Durch die schönen Untersuchungen van Rüdorff, De Coppet und Raoult 1) sind die Gefrierpunkts-erniedrigungen für eine grosse Reihe von Lösungen bekannt, und die beiden letztgenannten Forscher haben über die sogenannten molecülaren Gefrierpunktserniedrigungen, d. h. über die Erniedrigungen, welche Ein Molecül in 100 Gramm Wasser gelöst, verursacht, allgemeine Gesetze abgeleitet, mit denen unsere Sätze der isotonischen Coëfficienten in sehr befriedigender Weise übereinstimmen 2). De Coppet fand, *dass für die Glieder derselben chemischen Gruppe die moleculare Gefrierpunktserniedrigung nahezu dieselbe ist.* De Coppet arbeitete nur mit anorganischen Körpern, und Raoult zeigte, *dass sämmtliche organische Verbindungen pro Molecül dieselbe Erniedrigung des Gefrierpunktes verursachen.* Damit ist unser ersterer Satz ganz im Einklang, und unsere Gruppen stimmen mit den von De Coppet aufgestellten in befriedigender Weise überein. Nur die Chloride machen auch hier eine Ausnahme.

Einfache Beziehungen zwischen den verschiedenen Gruppen

---

1) Rüdorff. *Pogg. Ann.* CXIV p. 63, CXVI p. 55, CXXII p. 337 (1861—1864) De Coppet. *Ann. d. chimie et de physique,* 4e Serie XXIII p. 366, XXV p. 502, XXVI p. 98, (1871—1872). Raoult. *Comptes rendus* T. 90 p. 865, T. 94 p. 1517, T. 95 p. 187, p. 1030, T. 96 p. 560, p. 1653, (1880—1883).

2) Meine Methode hat vor der der Ermitteiung der Gefrierpunktserniedrigungen den Vorzug, dass sie mit stärker verdünnten Lösungen zu arbeiten erlaubt. Meine Lösungen hatten meist eine Concentration von 0,1—0,4 Aeq.; die von Raoult meist eine von 1 Aeq. und De Coppet arbeitete mit viel stärkeren, häufig sogar mit übersättigten Lösungen. Je verdünnter aber die Lösung, um so klarer treten die Beziehungen hervor. Ferner habe ich meine Stoffe zu einem bestimmten Volum der Lösung aufgelöst, während De Coppet und Raoult die festen Stoffe jedesmal in dieselbe Menge Wasser lösten. Endlich suchte ich die isotonischen Concentrationen auf, während die genannten Forscher nicht direct jene Lösungen aufsuchten, welche gleiche moleculare Gefrierpunktserniedrigungen hatten, sondern für Lösungen bestimmter Concentration den Gefrierpunkt ermittelten. Die Unterschiede zwischen den Gliedern derselben Gruppe werden nach meiner Methode bedeutend kleiner gefunden als sie z. B. Raoult angiebt.

hat De Coppet nicht aufgestellt, und Raoult fasst sämmtliche Stoffe in zwei Gruppen zusammen. Zu der ersteren gehören die organischen Stoffe, die schwachen anorganischen Säuren und das schwefelsaure Magnesium; zur letzteren die übrigen Salze, die starken Säuren und die fixen Alcalien. Die moleculäre Gefrierpunktserniedrigung für die erste Gruppe ist etwa 17—20, im Mittel 18.5, für die zweite 33—43, im Mittel etwa 37. Die Zahlen für die einzelnen, zur zweiten Gruppe gehörenden Stoffe hat Raoult bis jetzt nicht mitgetheilt.

Nach meinen Versuchen unterscheide ich mehr Gruppen als Raoult, aber abgesehen davon bestätigen meine Resultate die von beiden Physikern erhaltenen Ergebnisse auch in diesem Punkte, so weit meine Versuche gehen, völlig. Denn das schwefelsaure Magnesium hat denselben isotonischen Coëfficienten wie die organischen Körper (2), und wenn man die Salze meiner 2en, 3en, 4en und 6en Gruppe zusammenfasst, stehen ihre isotonischen Coëfficienten (3, 4 und 5) zu dem der organischen Stoffe (2) etwa in derselben Beziehung wie die entsprechenden Gefrierpunktserniedrigungen (33—43 zu 17—20).

Auch in besonderen Fällen findet für mehrere Verbindungen dieselbe Beziehung zwischen den isotonischen Coëfficienten wie zwischen den Gefrierpunktserniedrigungen statt. So weichen z. B. die Chloride in den Versuchen von De Coppet und Raoult in derselben Weise, jedoch stärker, von den verwandten Verbindungen ab, wie das Chlorcalcium und das Chlormagnesium in meiner Tabelle.

Ich darf also die Uebereinstimmung in den beiderseitigen Resultaten als eine sehr befriedigende betrachten, und die Ursache der noch nicht aufgeklärten Differenzen in den so sehr verschiedenen Methoden suchen.

Anwendung der isotonischen Coëfficienten auf die Analyse der Turgorkraft.

Es erübrigt mir jetzt noch, durch ein Beispiel zu zeigen, wie die mitgetheilten Erfahrungen uns nun zur Lösung des Hauptproblemes, der Zerlegung des Turgors in seine einzelnen Factoren, behülflich sein können.

Die quantitativ-chemische Analyse eines Pflanzensaftes pflegt keine vollständige zu sein; wohl immer giebt es einige Stoffe, welche sich bis jetzt der Bestimmung entziehen. Es ist deshalb erforderlich, die Affinität eines Zellsaftes zu Wasser direct mes-

sen zu können; dieses kann aber mit aus gepressten Zellsäften offenbar in derselben Weise geschehen wie mit chemisch reinen Lösungen. Ich habe dazu die oben beschriebene plasmolytische Methode angewandt, und die wasseranziehende Kraft der zu analysirenden Zellsäfte stets mit den Lösungen eines bestimmten Salzes, und zwar des Kalisalpeters verglichen.

Ist die chemische Analyse nach der titrimetrischen Methode ausgeführt, so giebt sie den Gehalt des Zellsaftes an den einzelnen Bestandtheilen in Aequivalenten, und also direct oder mittelst einer einfachen Umrechnung in Molecülen an. Eine Berechnung in Gewichtsprocenten ist dann nicht nöthig, da unsere isotonischen Coëfficienten ja grade für Molecüle gelten.

Als Beispiel wähle ich das Mark eines nahezu ausgewachsenen Blattstieles von *Rheum hybridum*. Der ausgepresste Saft hatte dieselbe Affinität zu Wasser wie eine Salpeterlösung von 0.22 Aeq. Die chemische Analyse ergab folgendes:

	In Aeq.	In Mol.	In Gewichtsprocenten.
Glucose	—	0.0078	1.4
Freie Oxalsäure	0.277	0.1885	1.25
Saures oxals. Kalium . . .	0.078	0.039	0.5
Oxalsaures Magnesium . . .	0.017	0.0085	0.1
Kaliphosphat	0.015	0.005	0.03

Die Zahlen der ersten Reihe wurden bei der titrimetrischen Messung direct gefunden; aus ihnen sind die der beiden anderen Reihen berechnet. Die Glucose wurde nach Fehling titrirt, es waren 2.8 c.c. der Fehling'schen Lösung auf 1 c.c. des Saftes erforderlich. Die Oxalsäure wurde acidimetrisch bestimmt, ihre Salze als kohlensaure Salze in der Asche titrirt, und aus den gefundenen Zahlen der Gehalt an freier Oxalsäure und saurem oxalsaurem Kali abgeleitet. Magnesium und Calcium wurden nicht getrennt, sondern zusammen als Magnesium berechnet. Es ist dieses deshalb erlaubt, weil die isotonischen Coëfficienten für die Salze beider Metalle dieselben sind. Das Kaliphosphat wurde gleichfalls in der Asche bestimmt.

Um aus diesen Zahlen den Antheil der einzelnen Stoffe an der Turgorkraft zu berechnen, haben wir also den in Molecülen ausgedrückten Gehalt mit dem zugehörigen isotonischen Coëfficienten zu multipliciren, und durch die in derselben Weise für die totale Turgorkraft berechnete Zahl ($0.22 \times 3 = 0.66$) zu dividiren. Die fraglichen isotonischen Coëfficienten nun sind für Oxalsäure 2, für saures oxalsaures Kalium 3, für oxalsaures Magnesium 2, für Kaliphos-

phat 4 und für Glucose 2. Wir erhalten in dieser Weise folgendes Schlussresultat:

	Proc. Antheil an der Turgorkraft.
Glucose	23.7
Oxalsäure	42.0
Saures oxals. Kalium	17.7
Oxals. Magnesium	2.6
Kaliphosphat	3.0
Summa	89.0

Es fallen somit noch 11 pCt. auf unbestimmte Stoffe des Zellsaftes.

In dieser Weise lässt sich nun stets der Antheil entweder eines einzigen, oder mehrerer Bestandtheile des Zellsaftes an der Turgorkraft bestimmen. Dazu ist jedesmal nur die Ermittelung der gesammten Affinität des Saftes zu Wasser, und seines Gehaltes an den fraglichen Substanzen erforderlich.

Für manche Zwecke reicht es hin, einzelne Bestandtheile des Zellsaftes in Bezug auf ihren Antheil an dem Turgor vergleichen zu können, ohne dass es nöthig wäre sie auf die gesammte Kraft zu berechnen. In diesen Fällen ist die Ermittelung der totalen Affinität des Saftes zu Wasser überflüssig, und es erfordert das Studium der Turgorkraft dann weiter nichts, als eine chemische Analyse, und eine Umrechnung ihrer Resultate mittelst der isotonischen Coëfficienten.

Amsterdam, 27 October 1883.

(Verslagen en Mededeelingen der Koninklijke Akademie van Wetenschappen, Afdeeling Natuurkunde, 2de Reeks Deel XIX, p. 314.)

SUR LA FORCE OSMOTIQUE DES SOLUTIONS DILUÉES.

A l'occasion de recherches sur la turgescence des cellules végétales, j'avais besoin de connaître la grandeur relative des forces avec lesquelles des solutions de diverses substances attirent l'eau, quand elles en sont séparées par une membrane perméable. Le cas le plus simple pour résoudre cette question est donné quand la membrane laisse uniquement passer l'eau, tandis qu'elle est impénétrable pour les substances dissoutes. Ce cas se trouve réalisé d'une manière suffisante, pour les recherches qui vont suivre, dans la plupart des cellules végétales turgescentes. C'est donc à celles-ci que j'ai eu recours dans mes expériences.

Mon but étant de connaître la grandeur relative des forces osmotiques de diverses substances, j'en ai determiné ce que j'appelle les *concentrations isotoniques* 1), c'est-à-dire les concentrations de leurs solutions aqueuses, qui attirent l'eau avec la même force. Ces concentrations seront inversement proportionnelles aux attractions exercées sur l'eau par un poids donné des substances en question. Or, si l'on exprime la concentration par molécule (H = 1gr), les valeurs obtenues seront inversement proportionnelles aux attractions exercées par une molécule des substances dont il s'agit, attractions que je veux appeler *coefficients isotoniques*.

Pour déterminer les concentrations isotoniques de diverses substances, je me suis servi du phénomène de la plasmolyse, c'est-à-dire de la contraction du protoplasma vivant, et j'ai cherché, pour chaque substance, à étudier la concentration la plus faible provoquant cette contraction. Suivant les principes de la méthode plasmolytique, ces concentrations seront isotoniques entre elles, et leurs valeurs réciproques donneront les coefficients désirés. En choisissant des plantes convenables, ces déterminations sont susceptibles d'une très grande précision.

Voici les coefficients que j'ai déterminés, et qui sont valables

---

1) De ἴσος, égal, et τόνος, tension.

pour des solutions très diluées, contenant environ 1 pour 100 du corps dissous:

COEFFICIENTS ISOTONIQUES.

Premier groupe.

Sucre de canne	$C^{12} H^{22} O^{11}$	1,9
Sucre interverti	$C^6 H^{12} O^6$	1,9
Acide malique	$C^4 H^6 O^5$	2,0
Acide tartrique	$C^4 H^6 O^6$	2,0
Acide citrique	$C^6 H^8 O^7$	2,0

Deuxième groupe.

Azotate de potasse	$K Az O^3$	3,0
Azotate de soude	$Na Az O^3$	3,0
Chlorure de potassium ...	$K Cl$	3,0
Chlorure de sodium.....	$Na Cl$	3,05
Chlorhydr. d'ammon	$Az H^4 Cl$	3,0
Acétate de potasse......	$KC^2 H^3 O^2$	3,0
Citrate acide de potasse ..	$KH^2 C^6 H^5 O^7$	3,05

Troisième groupe.

Oxalate de potasse	$K^2 C^2 O^4$	3,9
Sulfate de potasse......	$K^2 S O^4$	3,9
Phosphate de potasse....	$K^2 H PO^4$	4,0
Tartrate de potasse	$K^2 C^4 H^4 O^6$	4,0
Malate de potasse......	$K^2 C^4 H^4 O^5$	4,1
Citrate acide de potasse ..	$K^2 H C^6 H^5 O^7$	4,1

Quatrième groupe.

Citrate neut. de potasse...	$K^3 C^6 H^5 O^7$	5,0

Cinquième groupe.

Malate de magnésie	$Mg C^4 H^4 H^5$	1,9
Sulfate de magnésie.....	$Mg S O^4$	2,0

Sixième groupe.

Citrate de magnésie	$Mg^3 (C^6 H^5 O^7)^2$	3,9
Chlor. de magnésium	$Mg Cl^2$	4,3
Chlorure de calcium.....	$Ca Cl^2$	4,3

Il découle de ce Tableau:

1°. Que les coefficients isotoniques des substances étudiées ont à peu près la même valeur pour les nombres d'un même groupe,

et que ces valeurs sont, pour les divers groupes, à peu près dans le rapport de 2 : 3 : 4 : 5. Les groupes étudiés sont:

	Coefficients isotoniques.
1º Corps organiques	2
2º Sels alcalins, avec un atome de métal par molécule . .	3
» avec deux atomes de métal par molécule . .	4
» avec trois atomes de métal par molécule . .	5
3º Sels alcalino-terreux, dérivés d'une molécule d'acide . .	2
» dérivés de deux molécules d'acide .	4

Les sels des acides organiques et inorganiques, de même que les sels neutres et acides, obéissent également à ces lois. Les acides inorganiques libres et les bases libres n'ont pas jusqu'ici pu être étudiés par ma méthode.

Pour les sels examinés, le coefficient isotonique est égal à la somme des coefficients partiels de toutes les parties composantes. Ces coefficients partiels sont:

Pour les acides	2
Pour les métaux alcalins	1
Pour les métaux alcalino-terreux	0

Par cette règle, on peut trouver les coefficients de combinaisons non encore étudiées, mais appartenant aux mêmes groupes, par exemple: oxalate acide de potasse, KHC^2O^4, $1 + 2 = 3$; oxalate neutre de soude, $Na^2C^2O^4$, $2 \times 1 + 2 = 4$. Il découle de cette loi que dans les doubles décompositions des sels neutres, tant organiques qu'inorganiques, des sels acides organiques et des acides organiques libres, la somme des attractions pour l'eau ne change pas.

Les coefficients isotoniques laissent apercevoir une analogie frappante avec les abaissements moléculaires du point de congélation des solutions aqueuses, déterminés par les belles recherches de MM. de Coppet 1) et Raoult 2). En effet, les résultats de ces savants physiciens les ont conduits à réunir les substances étudiées dans des groupes analogues aux nôtres, tandis que, pour les combinaisons pour lesquelles les deux valeurs ont été déterminées, les rapports de ces abaissements sont sensiblement égaux à ceux de leurs coefficients isotoniques.

(Comptes Rendes de l'Académie des Sciences, 1883 T. X C VII p. 1083.)

---

1) De Coppet, *Annales de Chimie et de Physique*, t. XXIII, XXV et XXVI.
2) Raoult, *Comptus rendus*, t. XCIV, XCV et XCVI.

ZUR PLASMOLYTISCHEN METHODIK.

Die Plasmolyse, oder die Ablösung des lebendigen Protoplasma von der Zellhaut durch wasserentziehende Lösungen, ist in methodischer Hinsicht einer ausgedehnten Anwendung bei dem Studium der verschiedenartigsten physiologischen Erscheinungen fähig. Je nachdem man dabei nur die völlige Aufhebung des Turgors, oder die Vergleichung der osmotischen Kraft der Zellen mit derjenigen künstlicher Lösungen beabsichtigt, ist es entweder gleichgültig, oder andererseits vom höchsten Interesse, dass die Protoplaste während des Versuches nicht nur lebendig, sondern auch völlig gesund und in ihren normalen Eigenschaften völlig unverändert bleiben. Denn im letzteren Falle, wo es also auf genaue Messungen osmotischer Kräfte ankommt [1]), beruht die Methode auf dem Satz, dass während der Dauer der Versuche das Protoplasma gelöste Stoffe so wenig durch sich hindurchgehen lässt, dass es für sie, in Bezug auf den Versuch, als impermeabel betrachtet werden darf. Dieser Bedingung genügt nun zwar das lebendige Protoplasma erfahrungsgemäss in zahlreichen Fällen, aber immer nur so lange, als es völlig lebendig und gesund ist. Sobald es durch irgend eine Ursache erkrankt, oder gar anfängt zu sterben, hört die Garantie für die Richtigkeit jenes Satzes auf.

Die Erfahrung hat mich nun gelehrt, dass manche Protoplaste, bei längerem Aufenthalt in Lösungen, langsam sterben, und dass es häufig schwer ist, auf den ersten Blick zu entscheiden, ob sie noch gesund, oder bereits mehr oder weniger verändert sind. Das Sterben kann in ihnen so langsam vor sich gehen, dass sie Stunden, ja Tage lang in einem anscheinend lebendigen, in Wirklichkeit aber halbtodten Zustand gesehen werden. Und in dieser „Periode des langsamen Sterbens" zeigen sie häufig auffallende Abweichungen von der genannten Regel, welche einerseits zu merkwürdigen plasmolytischen Erscheinungen Veranlassung ge-

1) Vergl. Pringsh. Jahrb. Bd. XIV. S. 427 ff.

ben, andererseits aber leicht zu Irthümern bei der Anwendung der plasmolytischen Methode führen können.

Aus diesen Gründen wünsche ich die Erscheinungen des langsamen Sterbens erwachsener Pflanzenzellen in den Lösungen plasmolytischer Reagentien hier kurz zu schildern, und die Regeln anzugeben, durch welche man die dadurch bedingten Fehlerquellen möglichst unschädlich machen kann.

Als Beispiel wähle ich dabei hauptsächlich die violetten Oberhautzellen der Blattunterseite von *Tradescantia discolor*, in denen die meisten der zu erwähnenden Processe sich am leichtesten und am schönsten verfolgen lassen.

Wenn man Präparate aus diesem Gewebe Tage lang in neutralen, schwach plasmolysirenden Salzlösungen, oder Stunden lang in solchen Lösungen unter Zusatz irgend eines Giftes liegen lässt, so beobachtet man gewöhnlich Folgendes. Bei geringer Vergrösserung sieht das ganze Präparat noch völlig lebendig und anscheinend gesund aus, namentlich haben die Zellsäfte ihre Farbe in der ursprünglichen Intensität behalten. Bei stärkerer Vergrösserung sieht man aber, dass die gefärbten Zellsäfte nur von einer dünnen Schicht lebendigen Protoplasmas umgeben sind, während das äussere Protoplasma, sowie die Hautschicht und der Kern gestorben sind, und stellenweise, wie in Fetzen, jener Schicht ankleben. Letztere ist dabei glashell und stark lichtbrechend, hat eine glatte und gespannte Oberfläche, und lässt den Farbstoff des Zellsaftes, auch während einiger Tage, nicht durch sich hindurch gehen. Das äussere Protoplasma und der Kern sind wie geronnen, trübe und meist dunkel gefärbt.

In diesem Zustande kann die lebendige Schicht des Protoplasma, bei Zunahme der Concentration der umgebenden Lösung sich noch, wie ein gesunder Protoplast, contrahiren, und unter anderen äusseren Umständen sich auch wieder ausdehnen, ohne dabei die erwähnten Eigenschaften zu verlieren. Beim Erwärmen bis über die Temperaturgrenze des Lebens stirbt sie, schrumpft zusammen und lässt nun den Farbstoff durchgehen; ebenso stirbt sie auch stets, wenn man die Präparate nur hinreichend lange Zeit in den Lösungen aufbewahrt.

Diese Schicht des Protoplasma, welche nach obigen Beobachtungen sich gegen äussere Schädlichkeiten in so viel höherem Maasse resistent zeigt, als die übrigen Theile, ist offenbar die Wand der Vacuole, welche, wie die Stärkebildner, als ein beson-

deres Organ des Protoplasma betrachtet werden muss 1). Dass dieses Organ in Folge seiner eigenen Function, der Production und Anhäufung verschiedener in Wasser gelöster Stoffe, allmählich zu einer dünnen Blase ausgedehnt wird, kann offenbar dieser Auffassung um so weniger hinderlich sein, als solches mehr oder weniger auch von manchen der übrigen Organe der Protoplaste gilt. In den Zellen von *Spirogyra* gelang es mir häufig, dieses Organ völlig zu isoliren, nachdem Hautschicht, Kern und Chlorophyllbänder gestorben waren; es lag dann in einer schwach plasmolysirenden Lösung, als eine helle, gespannte, mehr oder weniger kugelige Blase mit glatter Oberfläche in der einen Hälfte der Zelle, während die übrigen Theile des Protoplasten sich in einer anderen Ecke zu einem unförmigen Klumpen zusammengeballt hatten. Fügte ich der Lösung Eosin zu, so färbten sich die letzteren dunkel, die Blase aber blieb, nebst ihrem Inhalte, völlig farblos.

Die grössere Resistenz der Vacuolenwandung gegen schädliche Einflüsse weist auf grössere Dichte und geringere Permeabilität für gelöste Stoffe, gegenüber den übrigen Theilen des Protoplasma, und namentlich gegenüber der Hautschicht. Manche Erfahrungen weisen in Uebereinstimmung hiermit darauf hin, dass bei der Plasmolyse und wohl auch sonst bei den Erscheinungen des Turgors erstere die maassgebende Membran ist, nicht letztere. Auch bleibt die lebendige Vacuolenwandung gespannt, während das übrige Protoplasma, nachdem es bereits gestorben ist, ihr ohne sichtliche Zeichen der Spannung äusserlich anhängt. Auch den Erscheinungen des Stoffwechsels gegenüber verhalten sich beide Membranen offenbar verschieden: die Hautschicht muss z. B. den für das Leben des Protoplasma erforderlichen Sauerstoff durchlassen, während in dem von der Vacuolenwandung umschlossenen Zellsaft in zahlreichen Pflanzen Stoffe gelöst sind, welche sich in Berührung mit Sauerstoff in rothe, blaue, braune oder schwarze Verbindungen umsetzen würden, dieses aber nicht thun, so lange sie von der lebendigen Wandung der Vacuole umschlossen sind.

Indem ich diese Erscheinungen in einem anderen Aufsatze ausführlich zu behandeln beabsichtige, beschränke ich mich hier auf die Diffusionseigenschaften der krankhaften, langsam sterbenden Protoplaste. Bei der mikroskopischen Beobachtnng gilt es als ein zuverlässiges Merkmal, dass eine Zelle todt ist, sobald ihr Proto-

---

1) Nach Arthur Meyer's Nomenclatur würde diesem Organe der Name Tonoplast, Turgorbildner, zukommen.

plasma Farbstoffe durchgehen lässt. Die folgenden Darlegungen beziehen sich aber sämmtlich auf diejenige Periode des langsamen Sterbens, in welcher dieses Stadium noch nicht erreicht, und das Protoplasma, oder wenigstens die Wand der Vacuole, für Farbstoffe noch völlig undurchlässig ist. Zellen mit gefärbtem Zellsaft, wie die der *Tradescantia*, geben hierüber bei jeder Beobachtung stets ohne Weiteres Aufschluss.

Die von mir beobachteten Erscheinungen lassen sich am leichtesten begreifen, wenn wir annehmen, dass während des langsamen Sterbens auch die Diffusionseigenschaften langsam von denen des lebendigen Zustandes in die des todten übergehen; mit anderen Worten, dass die äusserst geringe Permeabilität der ersteren nicht plötzlich, sondern allmählich, in die völlige Durchlässigkeit des letzteren Zustandes verändert wird. Es wird dann das Protoplasma der Reihe nach für die verschiedenen, in Wasser löslichen Stoffe, je nach ihrer grösseren oder geringeren Diffusibilität, und für jede einzelne Verbindung in stets wachsendem Maasse permeabel werden. So wird es z. B. Säuren und leicht diffusible Salze, wie Chlornatrium und Kalisalpeter, früher und rascher durchlassen als trägere Salze, wie z. B. schwefelsaure Magnesia und als Zucker, während die Farbstoffe wohl eine der letzten Stufen einnehmen werden. In dem Zustande aber, wo das Protoplasma für Säuren und rasch diffundirende Salze, nicht aber für schwerer diffundirende Salze, für Zucker und Farbstoffe merklich permeabel ist, verharrt es längere Zeit. In dieser Periode habe ich es nun einer eingehenden Untersuchung unterworfen, deren wichtigste Resultate im Folgenden kurz mitgetheilt werden sollen.

Je nachdem man als plasmolytische Reagentien leicht oder schwer diffusible Stoffe wählt, sind die Erscheinungen in dieser Periode verschieden. Als Beispiel für erstere benutzte ich vorwiegend Kalisalpeter und Chlornatrium, für letztere Rohrzucker.

Betrachten wir zunächst die Erscheinungen in Rohrzuckerlösungen. Ich benutzte diese in einer Concentration von 0,15 Grammmolekül im Liter (= 5,13 Proc.), welche in den Zellen der *Tradescantia*, so lange diese gesund sind, keine Plasmolyse hervorruft. Was wird nun aber geschehen, wenn das Protoplasma allmählich permeabler wird? Es hängt dieses davon ab, ob im Zellsafte Verbindungen vorkommen, welche leichter diffundiren als der Rohrzucker. Ist solches der Fall, so werden diese, sobald das Protoplasma für sie durchgängig wird, den Zellsaft verlassen, ohne dass gleichzeitig Rohrzucker in entsprechender Menge ein-

dringen kann. Die osmotische Kraft des Zellsaftes wird dadurch abnehmen, und früher oder später geringer werden, als die der äusseren Zuckerlösung. Dann muss Plasmolyse eintreten, und wenn der Verlust an leicht diffusiblen Stoffen des Zellinhaltes noch weiter fortschreitet, so müssen die Protoplaste sich mehr und mehr zusammenziehen.

Und da nun wohl in jedem Zellsaft Stoffe vorkommen werden, welche leichter diffusibel sind als Rohrzucker, so werden sterbende Protoplaste in schwachen Zuckerlösungen, welche die gesunde Zelle nicht plasmolysiren können, voraussichtlich wenigstens in zahlreichen Fällen diese Erscheinung, und zwar häufig in stetig zunehmendem Maasse zeigen.

Solches ist nun wirklich der Fall. Zwei bis drei Tage halten die Zellen der *Tradescantia* in der genannten Zuckerlösung aus, ohne plasmolysirt zu werden, dann fangen ihre Protoplaste aber an, sich zu contrahiren, und schrumpfen sie häufig bis auf die Hälfte oder ein Viertel ihres ursprünglichen Volumens zusammen, ohne dabei eine Spur von Farbstoff durchzulassen. Dasselbe beobachtete ich in Lösungen schwer diffusibler Salze, sowie auch bei anderen Arten. Setzt man nun gleich anfangs der Zuckerlösung irgend eine geringe Menge eines giftigen Stoffes zu, und beschleunigt man hierdurch den Process des Sterbens, so beobachtet man dieselbe Erscheinung, aber sie verläuft in viel kürzerer Zeit, häufig bereits in wenigen Stunden. Ich beobachtete solches nach Zusatz von verschiedenen Säuren, freien Basen und kohlensauren Salzen, von Jod, Aether und von Salzen der schweren Metalle.

In zweiter Linie betrachten wir die Plasmolyse sterbender Zellen in Lösungen leicht diffusibler Stoffe, wie Chlornatrium und Kalisalpeter, und nehmen an, dass die Lösungen eine solche Concentration haben, dass die Zellen gleich anfangs, also im völlig gesunden Zustande, mehr oder weniger stark plasmolysirt werden. Wird nun das Protoplasma allmählich permeabel für diese Salze, so werden sie in den Zellsaft übertreten, und dieses wird sich forsetzen, bis sie dort dieselbe Concentration erreichen wie ausserhalb. Dadurch wird aber die osmotische Kraft des Zellsaftes zunehmen, falls nicht gleichzeitig ein entsprechender Verlust an Inhaltsstoffen stattfindet, was wenigstens gewöhnlich wohl nicht der Fall sein wird. Diese Zunahme kann nun so weit gehen, dass der Zellsaft wieder mit grösserer Kraft Wasser anzieht als die umgebende Salzlösung, dieser also Wasser entzieht und damit ihr eigenes Volumen vergrössert. Ist dann der lebendige Theil des

Protoplasma hinreichend dehnbar, um diese Volumvergrösserung zu gestatten, ohne zu platzen oder sonst beschädigt zu werden, so kann der Zellsaft sich im günstigsten Falle wieder bis zum ursprünglichen Volumen ausdehnen, und die Plasmolyse also völlig verschwinden lassen.

Eine solche nachträgliche Ausdehnung plasmolytischer Protoplaste, ohne Verdünnung der äusseren Lösung, beobachtete ich nun vielfach beim längeren Aufenthalt der Zellen in Lösungen der beiden genannten Salze. Zumal junge, noch nicht völlig ausgewachsene Zellen zeigen die Erscheinung leicht und deutlich. Zusatz von Säuren oder Basen, von Jod oder Quecksilberchlorid beschleunigt den Process; mit ihrer Hilfe dehnten sich nicht selten Protoplaste, welche sich auf etwa ein Viertel des Zellenraumes contrahirt hatten, im Laufe einiger Stunden wieder so weit aus, dass sie die ganze Zelle ausfüllten, und verloren dabei ihre Impermeabilität für den Farbstoff des Zellsaftes nicht. Namentlich von Jod sind nur äusserst geringe Spuren, welche die Flüssigkeit noch nicht sichtlich färben, zu diesen Versuchen erforderlich; grössere Dosen tödten die Zellen viel zu schnell, und eine rasche Ausdehnung eines contrahirten Protoplasten bedingt nur zu leicht ein Platzen.

Bringt man die Präparate nicht gleich anfangs in eine starke Salzlösung, sondern legt man sie in Wasser, welchem das Salz (KNO_3 oder NaCl) aus einer Diffusionszelle allmählich zufliesst, so beobachtet man andere Erscheinungen. Sind die Protoplaste gesund, und also für die Salze impermeabel, so werden sie in demjenigen Augenblicke plasmolysirt, in welchem die Concentration jenen Grad erreicht, welcher auch beim plötzlichen Eintauchen die erste Spur von Plasmolyse hervorrufen würde. Selbst als ich die Concentration so langsam zunehmen liess, dass dieser Grad erst in 24 Stunden erlangt wurde, war das Resultat dennoch dasselbe. Macht man aber durch Zusatz irgend einer giftigen Substanz, z. B. durch Spuren von Säuren oder Basen, das Protoplasma für das Salz permeabel, so wird dieses im Anfange des Versuchs, bevor es noch eine hinreichende Stärke hat, um die Zellen zu plasmolysiren, in den Zellsaft eindringen und dessen osmotische Kraft erhöhen. Dadurch wird es nun offenbar einer grösseren Concentration bedürfen, um Plasmolyse hervorzurufen, und bei richtiger Leitung der Versuche wird man es dahin bringen können, dass die Zellen auch in ganz starken Salzlösungen nicht plasmolysirt werden. So erhielt ich Zellen in Lösungen verschiedener

Stoffe ohne Plasmolyse, bei einer Concentration, in der ihre Protoplaste sich, beim plötzlichen Eintauchen, bis auf die Hälfte oder ein Viertel ihres Volumens contrahirt haben würden, wie Controlversuche lehrten.

Aus diesen Resultaten meiner bisherigen Versuche ergeben sich nun für alle Fälle, wo es auf die Messung der osmotischen Kraft lebender Zellen ankommt, die folgenden:

Regeln für plasmolytische Versuche.

1. *Der Grad der Plasmolyse darf nur während des gesunden, völlig normalen Zustandes des Protoplasma beurtheilt werden,* denn im krankhaften, langsam sterbenden Zustand ist das Protoplasma für manche Salze mehr oder weniger permeabel. Im letzteren Falle würde der Grad der Plasmolyse also davon abhängen, ob während des Eindringens des plasmolytischen Reagens in die Präparate ein grösserer oder geringerer Theil der Inhaltsstoffe der Zelle, durch das Protoplasma hinaus, oder im Gegentheil ein Theil des zur Plasmolyse angewandten Salzes in den Zellsaft hinein diffundiren konnte. Je langsamer das Reagens in die Schnitte eindringt, um so grösser wird offenbar dieser Fehler sein.

Häufig ist es sehr schwer, nicht selten geradezu unmöglich, das krankhafte Protoplasma unter dem Mikroskop direct vom gesunden zu unterscheiden. Nur wenn es bis auf die Wand der Vacuole völlig gestorben ist, Hautschicht und Kern also geronnen und dunkler gefärbt sind, sind die Zeichen des langsamen Todes deutlich und unverkennbar. Sonst sind diese meist nur aus den plasmolytischen Erscheinungen selbst abzuleiten.

2. *Der Aufenthalt in den Lösungen darf nicht länger dauern, als gerade erforderlich ist.* Bei längerem Aufenthalt fangen die Zellen an, zu sterben; demgemäss contrahiren sich die Protoplaste in Lösungen schwach diffundirender Stoffe, oder dehnen sich in solchen leicht diffusibler Verbindungen wieder aus; ein Versuch, der nach 2—4 Stunden ein bestimmtes Resultat gibt, würde nach 1—2 Tagen vielleicht ein ganz anderes ergeben. Zumal wenn man die niedrigste, zur Plasmolyse gerade erforderliche Concentration verschiedener Stoffe bestimmen will, ist diese Regel von höchster Wichtigkeit; diese Grenze kann bei empfindlichen Zellen schon in 12—24 Stunden merklich verschoben werden. Ausgewachsene, ruhende Zellen halten gewöhnlich in Lösungen länger und besser aus, als jugendliche oder sehr active.

3. *Die Lösungen müssen vollig neutral und nicht giftig sein.* Eine saure oder basische Reaction der Lösungen, oder die Anwesenheit von Spuren eines giftigen Bestandtheiles beschleuningen den Anfang und den Verlauf des langsamen Todes, und machen daher die erwähnten Fehlerquellen um so gefährlicher, je schädlicher sie dem Leben sind. Zumal ist die Reaction der Lösungen zu beachten. Freie Basen sind den meisten Pflanzenzellen so gefährlich, dass sie bereits in äusserst geringen Spuren die Resultate plasmolytischer Messungen illusorisch machen. Salze, welche in verdünnten Lösungen merklich dissociiren, wie die neutralen Ammoniaksalze vieler schwachen Säuren, lassen ihre Base in das Protoplasma eindringen, und liefern somit bei der plasmolytischen Methode keine zuverlässigen Resultate. Sehr geringe Mengen von kohlensauren Salzen haben dieselbe Wirkung. Gegen Säuren sind die Protoplaste im Allgemeinen widerstandsfähiger, denn diese werden in geringen Mengen von manchen Zellen ohne Schaden für das Resultat stundenlang ertragen, doch bedarf solches in jedem einzelnen Falle besonderer Controlversuche.

In sauren Lösungen ist deshalb *die Wahl des Materials* von Bedeutung. Die Zellen der *Curcuma* ertragen mehr Säure als die der *Tradescantia*, und die rothen Zellen von *Begonia Rex* und *B. manicata* liefern sogar oft in relativ hoch concentrirten Lösungen mancher, zumal organischer Säuren zuverlässige Resultate.

4. *In Zweifelsfällen sind stets die besonderen Merkmale der abnormalen Plasmolyse zu beachten.* Die abnormale Plasmolyse, welche nur dem langsam sterbenden Protoplasma eigen ist, unterscheidet sich vor Allem von der normalen Plasmolyse der gesunden Zellen dadurch, dass die Protoplaste keine constante, Stunden oder Tage lang sich völlig gleich bleibende Grösse annehmen. In Zucker und ähnlichen Lösungen schreitet bei ihr die Contraction stetig fort, bis die Protoplaste auch in schwacher Lösung ganz klein geworden sind; in Lösungen von Salpeter und Kochsalz ziehen sie sich zwar anfangs rasch zusammen, dehnen sich dann aber allmählich wieder aus, bis sie entweder platzen und sterben, oder das ganze Zelllumen wieder ausfüllen. In unschädlichen Lösungen pflegen gesunde Protoplaste dagegen nach 1—2 Stunden eine bestimmte Grösse anzunehmen, welche sie jetzt oft 10—20 Stunden, d. h. so lange sie überhaupt gesund bleiben, beibehalten. Hierdurch bietet eine Controle nach 10—20 Stunden häufig ein Mittel, um über die Zuverlässigkeit eines Versuchsresultates zu entscheiden.

Ein anderes, oft warnendes Merkmal liefert das Verhalten der Zellen am Rande der Präparate. In die Mitte eines Präparates dringt das plasmolytische Reagens häufig merklich langsamer ein als in die Randpartien, und nur bei völlig gesundem Protoplasma fängt die Plasmolyse beim raschen und beim langsamen Eindringen bei genau derselben Concentration der Lösung an. Beobachtet man also am Rande einen anderen Grad der Plasmolyse als in der Mitte, so muss man vermuthen, dass die Protoplaste nicht mehr völlig gesund, das Resultat also nicht mehr unbedingt zuverlässig ist.

Eine häufige Fehlerquelle ist wohl eine nicht ganz neutrale Reaction der Lösungen. Hier bieten die Zellen mit gefärbtem Zellsaft oft den grossen Vortheil, dass sie die Reaction der angewandten Lösung durch Farbenänderung anzeigen. Die violetten Zellen der *Tradescantia* färben sich in alkalischen Lösungen blau, in sauren roth, ist das Salz neutral oder so schwach sauer, dass es dem Leben nicht gefährlich ist, so bleibt die Farbe unverändert.

Verliert man diese Regeln nicht aus dem Auge, so liefert die plasmolytische Methode erfahrungsgemäss übereinstimmende und zuverlässige Resultate.

(Botanische Zeitung, 42. Jahrgang 1884 S. 289.)

EINE METHODE ZUR ANALYSE DER TURGORKRAFT.

INHALT.

I. UEBER ISOTONISCHE COEFFICIENTEN.

Einleitung.

Die osmotische Kraft eines Zellsaftes ist die Summe der Anziehungen, welche seine einzelnen Bestandtheile auf das umgebende Wasser ausüben. Für jeden Bestandtheil wird die Grösse dieser Anziehung offenbar durch zwei Factoren bestimmt; es sind dies die Menge, in der er im Safte vorkommt, und die Affinität seiner Molecüle zum Wasser. Diese Affinität ist in stark verdünnten Lösungen für jede Verbindung eine constante Grösse, welche in bestimmter Weise von ihrer chemischen Zusammensetzung abhängt und durch eine einfache Zahl ausgedrückt werden kann. *Jene Zahl nenne ich den isotonischen Coëfficienten der betreffenden Verbindung; dieser weist also die Grösse der Anziehung Eines Molecüles*[1]) *des fraglichen Körpers in verdünnter wässeriger Lösung zum Wasser an.* Als Einheit habe ich dabei, aus bald zu erörternden Gründen, ein Drittel der Anziehung eines Molecüles Kalisalpeter gewählt.

Die bis jetzt von mir bestimmten isotonischen Coëfficienten sind:

Für organische metallfreie Verbindungen	2
Für die Salze der Alcalien, mit je einem Atom Metall im Molecül	3
Für die Salze der Alcalien, mit je zwei Atomen Metall im Molecül	4
Für die Salze der Alcalien, mit je drei Atomen Metall im Molecül	5
Für die Salze der Erdalcalien, mit je einem Atom Säure im Molecül	2
Für die Salze der Erdalcalien, mit je zwei Atomen Säure im Molecül	4

1) d. h: Eines Molecüles in Grammen ausgedrückt, oder H = 1 Gramm angenommen.

Die Kenntniss dieser Zahlen ist unerlässlich, wenn man bei pflanzenphysiologischen Versuchen den Antheil berechnen will, den die verschiedenen im Zellsaft vorkommenden Stoffe an der Turgorkraft haben. Mit ihrer Hülfe aber lässt sich diese Aufgabe in sehr einfacher Weise lösen, wenn der Gehalt des Zellsaftes an den betreffenden Verbindungen durch eine chemische Analyse bekannt ist.

Wie eine solche Rechnung auszuführen ist, werde ich im zweiten Theil behandeln; der erste Theil ist ausschliesslich den Betrachtungen und Versuchen gewidmet, auf welche die Kenntniss dieser Coëfficienten beruht.

Eine kurze Erörterung der Principien, nach denen unsere Coëfficienten aus den Versuchen abgeleitet werden und eine nähere Begründung des für sie gewählten Namens möge der Beschreibung der befolgten Methoden vorausgehen.

Die Anziehung zwischen den Molecülen eines gelösten Körpers und seinem Lösungsmittel ist eine physikalische Kraft, und die isotonischen Coëfficienten, welche das Maass dieser Anziehung sein sollen, beziehen sich somit auf eine physikalische Eigenschaft der betreffenden Körper. Sie könnten also durch geeignete Methoden unabhängig von der Pflanze bestimmt werden. Eine solche Bestimmung ist aber bis jetzt, von der Seite der Physik, nicht, oder wenigstens nicht in der Weise ausgeführt worden, dass eine Anwendung auf die Analyse der Turgorkraft möglich wäre. Ich habe mich dadurch gezwungen gesehen, diese Zahlen selbst zu ermitteln und die erforderlichen Methoden dazu ausfindig zu machen.

Für meinen Zweck, die Analyse der Turgorkraft, reichte es völlig aus, die *relative* Grösse der Anziehung zu Wasser für die verschiedenen im Zellsaft vorkommenden Stoffe kennen zu lernen, da es sich nur darum handelte, sie mit einander in dieser Beziehung vergleichen zu können. Ich habe deshalb die Anziehung eines willkürlich gewählten Körpers zum Wasser als Ausgangspunkt für meine Untersuchungen angenommen und darauf die Grösse jener Kraft bei anderen löslichen Verbindungen bezogen. Die Methoden, welche ich dabei befolgt habe, zwangen mich, jede einzelne Verbindung stets direct experimentell mit jenem Körper zu vergleichen, und die Wahl des Vergleichsobjectes wurde dementsprechend nicht nach theoretischen Principien, sondern nach den Anforderungen des Experimentes getroffen. Diesen entsprach, aus den in meinen „Ursachen der Zellstreckung" Opera I S. 371 namhaft gemachten Grün-

den, am meisten der *Kalisalpeter*, und so wurde dieses Salz zum Ausgangspunkte meiner Studien erhoben.

Es galt also, für jede im Zellsaft vorkommende Verbindung die Anziehung zu Wasser mit der des Kalisalpeters zu vergleichen. Es konnte dieses entweder derart geschehen, dass die Grösse dieser Anziehungen für eine Lösung der fraglichen Verbindung und eine Salpeterlösung gleicher Stärke gemessen wurde, oder so, dass ich für Lösungen, welche die gleiche Anziehung zum Wasser besassen, den Gehalt an gelöster Substanz bestimmte. Ich habe den letzteren Weg gewählt, und also für eine bestimmte, jedoch stets sehr niedrige Concentration einer jeden der wichtigsten im Zellsaft vorkommenden Verbindungen die Stärke derjenigen Salpeterlösung ermittelt, welche mit ihr dieselbe Affinität zum Wasser hat.

Da dieses Verfahren somit bei jedem einzelnen Versuch wiederkehrte, sah ich mich veranlasst, die gesuchten Concentrationen mit einem einfachen Namen zu belegen. Die Wahl der anzuwendenden Bezeichnung war in Verband mit den befolgten Methoden leicht zu treffen. Aus dem nächsten Abschnitte wird man sehen, dass ich jene Concentrationen der Lösungen verschiedener Substanzen aufsuchte, welche mit der Turgorkraft derselben Zelle Gleichgewicht machen, welche also mit derselben Kraft das Wasser anziehen, wie der Zellsaft der betreffenden Zelle. Solche Concentrationen gleicher Spannung habe ich nun *isotonische* 1) genannt; Lösungen solcher Stärke würden also, wenn sie den Zellsaft einer lebendigen Zelle bildeten, die gleiche Turgorkraft liefern. *Isotonische Concentrationen sind also solche, in denen die Lösungen verschiedener Substanzen mit derselben Kraft Wasser anziehen*, oder mit der gleichen Turgorkraft einer Zelle Gleichgewicht machen.

Aus dieser Bezeichnung ist nun für das Verhältniss zwischen jenen Concentrationen, wie wir bald sehen werden, der Name der isotonischen Coëfficienten abgeleitet.

Jede Verbindung wurde direct mit dem Kalisalpeter verglichen und es konnte somit einfach als Maass für die Grösse der Anziehung einer beliebigen Lösung zum Wasser die Stärke einer mit ihr isotonischen Lösung von Kalisalpeter genommen werden. Umgekehrt werden wir bei den Analysen der Turgorkraft aus der bekannten Stärke einer Lösung und dem isotonischen Coëfficienten des gelösten Körpers jedesmal die absolute Grösse der Anziehung zum Wasser zu berechnen haben, und diese am einfachsten so aus-

---

1) Von *ἴσος*, gleich, und *τονος*, Spannung, Turgor.

drücken, dass wir die Stärke einer isotonischen Salpeterlösung angeben. Dieses hat mich veranlasst, auch diese Grösse mit einem besonderen Namen zu belegen, und ich werde dementsprechend die Stärke einer Salpeterlösung, welche dieselbe Anziehung zum Wasser hat wie eine gegebene Lösung eines anderen Körpers, als deren *Salpeterwerth* bezeichnen. Die Ermittelung dieses Salpeterwerthes für irgend eine Concentration der Lösung einer untersuchten Verbindung war die directe Aufgabe jedes einzelnen Versuches.

Um aber die Salpeterwerthe der Lösungen verschiedener Verbindungen mit einander vergleichen zu können, war es selbstverständlich erforderlich, sie auf gleich concentrirte Lösungen aller Körper umzurechnen. Dabei entsteht aber die Frage, in welcher Form diese Concentration selbst anzugeben ist, ob in der üblichen Weise nach Gewichtsprocenten oder, wie bei titrimetrischen Analysen, nach Aequivalenten, oder endlich, den Anforderungen der heutigen theoretischen Physik entsprechend, in Molecülen? Im Laufe der Untersuchung zeigte zich nun, dass nur, wenn man den letzteren Weg einschlägt, die Salpeterwerthe gleich starker Lösungen verschiedener Substanzen zu einander in sehr einfachen Verhältnissen stehen, dass also nur auf diesem Wege eine klare Einsicht in die hier obwaltenden Gesetze erlangt werden kann. Wir werden demnach ein für allemal die Anzahl der Molecüle in einem bestimmten Volumen der Lösung und nicht die Anzahl der Gramme gelöster Substanz als das Maass der Concentration betrachten, sobald Lösungen von Substanzen verschiedener Zusammensetzung, also auch von verschiedenem Gewicht der einzelnen Molecüle, mit einander zu vergleichen sind. 1)

Hat man nach diesen Principien die Salpeterwerthe für Lösungen berechnet, welche in dem gleichen Volumen dieselbe Anzahl von Molecülen enthalten, so lässt sich daraus offenbar direct auf die relative Grösse der Anziehung je eines Molecüles zum Wasser schliessen. Es hat sich nun aus meinen Versuchen ergeben, dass die Salpeterwerthe von Lösungen verschiedener Substanzen, welche sämmtlich 0.1 Molecül in Grammen ausgedrückt im Liter enthalten, je einem der folgenden Zahlen nahezu gleich sind: 0.066, 0.10, 0.133, 0.166. Ich hätte nun diese Zahlen ohne Weiteres zu isotonischen Coëfficienten erheben können, und müsste dieses auch thun,

1) Da die Aequivalente zu den Molecülen stets in einfachem Verhältniss stehen, habe ich meine empirischen Lösungen, den Vorschriften der titrimetrischen Methode folgend, nach Aequivalenten dargestellt und sie für die Berechnung des Resultates auf Molecüle umgerechnet.

wenn ich für den Kalisalpeter die Einheit einsetzen wollte. Ich habe es aber vorgezogen, solches nicht zu thun, sondern die Einheit unserer Coëfficienten so zu wählen, dass diese selbst zu ganzen Zahlen würden. Es veranlasste mich dazu die Erwägung, dass jene Zahlen sich nahezu zu einander verhalten, wie 2 : 3 : 4 : 5. Der genannte Zweck wird somit erreicht, wenn wir den Coëfficienten des Salpeters willkürlich zu 3 wählen. *Wir setzen also die Anziehung eines Molecüles Kalisalpeters zum Wasser in verdünnter Lösung = 3; und es wird somit die Anziehung aller übrigen untersuchten Verbindungen pro Molecül nahezu gleich 2, 3, 4 oder 5.* Diese Zahlen sind es nun, welche ich im Anfange isotonische Coëfficienten genannt habe.

Diesen Erörterungen entsprechend sind also die *isotonischen Coëfficienten* die Zahlen, welche das Verhältniss zwischen den Salpeterwerthen gleich concentrirter Lösungen anweisen, und da gleich concentrirte Lösungen nach dem oben Gesagten hier solche bedeuten, welch im Liter die gleiche Anzahl Molecüle enthalten, so geben unsere Coëfficienten selbstverständlich die relative Grösse der Anziehung zu Wasser für je ein Molecül (H = 1 Gramm) an. Hierauf gründet sich die S. 138 gegebene Definition und die Berechtigung der Methode, nach der unsere Coëfficienten berechnet worden sind.

Denn hat man durch den Versuch den Salpeterwerth für eine Lösung von 0,1 Molecül gefunden, so braucht man diese Zahl offenbar nur mit 30 zu multipliciren, um den isotonischen Coëfficienten der betreffenden Verbindung zu erhalten.

Die isotonischen Coëfficienten geben also die relative Anziehung der verschiedenen Substanzen (pro Molecül gerechnet) zu Wasser an. Wünscht man für sie eine Einheit, so ist diese offenbar ein Drittel der Anziehung eines Salpetermolecüles zu Wasser. Aus mehrfachen Gründen empfiehlt sich dazu aber auch die Hälfte der Affinität eines Molecüles Oxalsäure, also die Anziehung eines Aequivalenten Oxalsäure zu Wasser. Denn diese Säure stellt nach Mohr 1) die Grundlage der acidimetrischen Titrirmethode dar, bei der jede Analyse stets auf eine Lösung von 0,1 Aequivalent Oxalsäure bezogen, resp. durch directe oder indirecte Vergleichung der zu analysirenden Lösung mit einer solchen ausgeführt wird. Der isotonische Coëfficient von Oxalsäure ist aber nach S. 138 = 2, der

1) F. Mohr, Lehrbuch der analytisch-chemischen Titrirmethode.

von einem Aeq. Oxalsäure also = 1. Die isotonischen Coëfficienten weisen demnach an, wie viele Aequivalente (= halbe Molecüle) Oxalsäure mit derselben Kraft Wasser anziehen wie ein Molecül der fraglichen Verbindung.

Mittelst unserer isotonischen Coëfficienten lässt sich nun offenbar für eine jede verdünnte Lösung eines beliebigen Körpers die Grösse der Anziehung zum Wasser berechnen, wenn ihre Concentration bekannt ist. Man hat dazu einfach ihren Salpeterwerth zu berechnen — denn dieser gilt uns als das Maass für jene Anziehung. In gemischten Lösungen berechnet man aus der Analyse den Salpeterwerth jeder einzelnen Verbindung, und die Summe dieser Grössen ist offenbar gleich dem Salpeterwerthe der Mischung. Diese Berechnungen werden wir im zweiten Theil näher besprechen und durch Beispiele erläutern; sie bilden die Grundlage einer jeden Analyse der Turgorkraft.

In den folgenden Abschnitten dieses ersten Theiles gebe ich nun zunächst eine kurze Auseinandersetzung der Principien, welche mich bei der Wahl und Ausbildung meiner Methoden geleitet haben, und dann eine detaillirte Beschreibung der einzelnen Methoden und der danach angestellten Versuche. Die Discussion der Resultate trenne ich davon vollständig; sie bildet den Gegenstand des letzten Kapitels, in welchem die Gesetze der isotonischen Coëfficienten und die Beziehungen der durch sie gemessenen Kraft zu anderen physikalischen Kräften erörtert werden.

Abschnitt I. **Principien der Methoden.**

Die ganze Untersuchung über die isotonischen Coëfficienten wurde im Dienste der Analyse der Turgorkraft unternommen, und es ergab sich daraus als oberstes Princip, dass die wichtigsten Versuchsbedingungen, wie z. B. der Grad der Verdünnung der Lösung, die Temperatur u. s. w. so viel wie möglich dieselben sein müssten, wie in denjenigen physiologischen Processen, auf welche die Analyse der Turgorkraft später Anwendung finden würde. Weitaus am einfachsten und sichersten wird dieses aber erreicht, wenn wir den Turgor selbst als Grundlage unserer Methode wählen.

Ich habe nun eine Reihe von Erscheinungen aus dem Gebiete des Turgors auf ihre Brauchbarkeit für meinen Zweck geprüft, und es zeigte sich, dass die erforderlichen Bedingungen in zwei Fällen in befriedigender Weise erfüllt waren. Es waren diese die Plasmo-

lyse ausgewachsener Zellen und die Gewebespannung wachsender Organe. Auf diese beiden Erscheinungen liessen sich empfindliche und zuverlässige Methoden gründen, wie ich jetzt auseinandersetzen werde.

Beide Methoden sind physiologische, und vielleicht wird mancher Leser den Einwand machen, dass rein physikalische Eigenschaften der Körper, wie die isotonischen Coëfficienten, auch nach physikalischen Methoden zu erforschen wären. Ich gebe dieses gerne zu, muss aber sogleich hervorheben, dass physiologische Methoden, wenigstens in diesem Falle, mit den besten physikalischen Methoden in Genauigkeit und Sicherheit der Ausführung wetteifern können. Ueberhaupt sind die lebenden Zellen so empfindlich und die Lebenserscheinungen so fein abgestuft, dass man sich nicht wundern darf, wenn mit physiologischen Methoden sogar schärfere und feinere Resultate erhalten werden als mit rein physikalischen. Ich brauche nur auf Engelmann's neueste Untersuchungen mittelst der Bacterien-Methode zu weisen, um die Berechtigung meiner Behauptung durch ein klares und allgemein bekanntes Beispiel zu sichern.

Nach diesen Auseinandersetzungen können wir dazu übergehen, die Grunderscheinungen zu beschreiben auf welche unsere Methoden zur Bestimmung der isotonischen Coëfficienten gegründet sind. Sie sind, wie bemerkt, der Plasmolyse und der Gewebespannung entlehnt.

Zunächst fassen wir *die plasmolytische Methode* in's Auge.

Die bahnbrechenden Arbeiten von Pringsheim und Nägeli haben vor nahezu dreissig Jahren in der Contraction des lebendigen Protoplasma von der Zellhaut unter dem Einfluss wasserentziehender, aber die Zellen nicht tödtender Flüssigkeiten eine Erscheinung kennen gelehrt, deren Bedeutung für die wichtigsten Abschnitte unserer Wissenschaft seitdem stetig zugenommen hat 1). Auf die breite von diesen Forschern gelegte Grundlage beruht unsere plasmolytische Methode, wie bereits der Name andeutet. Es war zumal Pringsheim, der die Anwendung von Salzlösungen und die Benutzung schwacher Concentrationen empfahl und die Nothwendigkeit betonte, nicht nur die fertige Erscheinung, sondern vorwiegend deren ersten Anfänge und deren allmäliges Fortschreiten zu studiren, während Nägeli sein Hauptaugenmerk auf die physikalischen

---

1) N. Pringsheim, Untersuchungen über den Bau und die Bildung der Pflanzenzelle. 1854.

Eigenschaften des contrahirten Protoplasma lenkte. Diese Principien sind es, von denen unsere Methode ausgeht; sie sucht die Plasmolyse in möglichst schwach concentrirten Lösungen, vorwiegend von Salzen, auf, und findet ihre Berechtigung in der von Nägeli hervorgehobenen Impermeabilität des Protoplasma.

Wird eine ausgewachsene Zelle in eine starke Salzlösung gebracht, so löst sich bekanntlich der lebendige Plasmaschlauch von der Zellhaut los, und zieht sich auf ein kleineres Volumen zusammen, indem der von ihm umschlossene Zellsaft Wasser an die umgebende Salzlösung abgiebt. Je schwächer die eindringende Lösung, um so geringer ist diese Contraction oder die Plasmolyse. Es lässt sich nun leicht durch Ausprobiren verschieden concentrirter Lösungen bestimmen, welche die schwächste Lösung ist, welche noch gerade zur Abhebung des Protoplasten, sei es auch nur an einer einzigen Ecke, genügt.

Diese Concentrationsgrenze kann man nun für verschiedene Körper ermitteln, z. B. für Kalisalpeter und eine beliebige andere Verbindung, und, wie ich sogleich zeigen werde, ergiebt es sich dann ans einer einfachen Ueberlegung, dass diese beiden Stoffe in jenen Concentrationen genau mit der gleichen Kraft Wasser anziehen. Solche Concentrationen sind also nach unserer Definition (S. 140) als *isotonische* zu bezeichnen.

Dass nun diese Lösungen dieselbe Affinität zu Wasser besitzen, ergiebt sich aus einer genauen Betrachtung der plasmolytischen Grunderscheinung. Der Protoplast bildet eine allseitig geschlossene Blase, welche den Zellsaft umschliesst, und ist bekanntlich sowohl für die verschiedenen in jenem Safte gelösten Körper als auch für künstliche, von aussen einwirkende Substanzen, so lange diese unschädlich sind, impermeabel. Dagegen lässt er Wasser mit grosser Leichtigkeit durch sich hindurchgehen, und es stellt sich also sehr bald ein Gleichgewichtszustand ein, in welchem die innere und die

---

C. Nägeli, Primordialschlauch und Diosmose (Endosmose und Exosmose) der Pflanzenzelle. In den Pflanzenphysiol. Unters. von C. Nägeli und C Cramer, Heft I, 1855.

Ueber Turgescenz, sowie über osmotische und plasmolytische Erscheinungen vergleiche man ausserdem:

Dutrochet: Mémoires pour servir à l'histoire des végétaux et des animaux. 1837.

J. Sachs, Mechanik des wachsens, im Lehrbuch der Botanik, 3. u. 4. Aufl.
W. Pfeffer, Osmotische Untersuchungen, Studien zur Zellmechanik, 1877.
de Vries, Die mechanischen Ursachen der Zellstreckung, 1877.
und ferner die in diesen Abhandlungen citirte Literatur.

äussere Lösung das Wasser mit derselben Kraft anziehen. Je mehr Flüssigkeit der inneren Lösung entzogen werden muss, bevor dieser Zustand erreicht ist, um so geringer wird ihr Volumen, um so höher ihre Concentration. In einer plasmolysirten Zelle übt also der Zellsaft dieselbe Anziehung zu Wasser aus, wie die Lösung, in der sie liegt, wenn man wenigstens von der geringen Differenz absieht, welche der Druck des elastisch gespannten Protoplasten auf den Zellsaft ausübt, und welcher also zu der Affinität der äusseren Lösung addirt werden müsste, um völlige Gleichheit zu erlangen.

Jetzt denke man sich zwei einander in jeder Beziehung gleiche Zellen, welche durch Lösungen verschiedener Salze plasmolysirt sind. Es sei die Concentration der letzteren derart gewählt, dass in beiden die Plasmolyse genau den gleichen Grad erreicht hat. Die Concentration und das Volumen der Zellsäfte werden also in beiden Zellen einander gleich sein, also auch die Affinität dieser Säfte zu Wasser. Ebenfalls wird die elastische Spannung der beiden Protoplaste dieselbe sein. Daraus geht hervor, dass die beiden äusseren Lösungen, welche mit der Affinität der Zellsäfte zu Wasser und der elastischen Spannung des Protoplasten in beiden Zellen Gleichgewicht machen, gleichfalls beide mit derselben Kraft Wasser anziehen und dass ihre Concentrationen also isotonische sind.

Ob in zwei Zellen die Plasmolyse denselben Grad erreicht hat, lässt sich aber um so genauer beurtheilen, je geringer die Ablösung von der Zellhaut ist, und am leichtesten, wenn in beiden Zellen nur eine gerade wahrnehmbare Spur von Contraction stattgefunden hat. Aus diesem Grunde wird man in den Versuchen stets die schwächsten Concentrationen aufsuchen, welche gerade noch Plasmolyse hervorrufen.

Aus den isotonischen Concentrationen lassen sich nun ohne Weiteres die isotonischen Coëfficienten auf die in der Einleitung besprochenen Weise berechnen. Man geht dabei von der Voraussetzung aus, dass die Affinität für Wasser in verdünnten Lösungen, innerhalb der Grenzen unserer Versuche, der Concentration der Lösung proportional, oder mit anderen Worten, für jedes einzelne Molecül von dieser Concentration unabhängig ist. Die Richtigkeit dieser Voraussetzung aber werden wir im folgenden Abschnitt § 4 experimentell beweisen. 1)

Hiermit ist das Princip der plasmolytischen Methode angegeben,

---

1) Für manche concentrirte Lösungen gilt diese Regel erfahrungsgemäss nicht.

die Details der Ausführung wolle man im nächsten Abschnitt vergleichen.

Die *Methode der Gewebespannung* geht von der folgenden Thatsache aus. Spaltet man den wachsenden Gipfel eines Sprosses der Länge nach in vier möglichst gleiche Theile, so krümmen sich diese augenblicklich, indem das Mark sich verlängert und die Epidermis sich zusammenzieht [1]). Legt man nun einen Streifen in Wasser, so nimmt das Mark dieses rasch auf, die Krümmungen nehmen zu und das Ganze rollt sich häufig zu einer enggewundenen Spirale zusammen. Legt man einen zweiten Streifen in eine starke Salzlösung, so entzieht diese dem Marke einen Theil seines Wassers, der Streifen wird schlaff und verliert seine Krümmung. Zwischen diesen beiden Extremen lässt sich nun eine Concentration ermitteln, in der die Krümmung der Streifen weder zu- noch abnimmt, die Zellen des Markes also weder Wasser aufnehmen noch auch solches verlieren. In dieser Concentration zieht also die Salzlösung mit derselben Kraft Wasser an sich wie das lebendige Markgewebe. Die Wasser anziehende Kraft des turgescenten Gewebes ist nun zwar nicht dieselbe wie die des in seinen Zellen enthaltenen Zellsaftes, sondern um so viel geringer als der elastischen Spannkraft der Protoplaste und der Zellhäute entspricht; jedoch hat dieses auf unsere Erörterung keinen Einfluss.

Hat man nun für zwei verschiedene Salze die Concentrationen ermittelt, in denen die Kreuzstreifen desselben Sprosses weder an Krümmung gewinnen noch verlieren, so sind diese offenbar isotonische Concentrationen, und ist das eine Salz Kalisalpeter, so lässt sich aus ihnen der isotonische Coëfficient des anderen Körpers in der früher besprochenen Weise ableiten. Die Details der Methode findet man im dritten Abschnitt, § 1.

Beide Methoden führen, wie sich erwarten liess, und wie man in den folgenden Abschnitten sehen wird, in der Hauptsache zu denselben Resultaten. Es beweist dieses experimentell, dass unsere Coëfficienten für die Lebenserscheinungen wachsender und ausgewachsener Zellen dieselben sind, und also auf beide Fälle angewandt werden dürfen. Man vergleiche hierüber auch den zweiten Abschnitt, § 5.

Vergleicht man die beiden Methoden mit einander, so haben beide ihre Vortheile, aber auch ihre Nachtheile. Bei der zweiten Methode häuft sich die Wirkung zahlloser Zellen in jedem Streifen

1) Sachs, Lehrbuch der Botanik, 4. Aufl., S. 764 ff.

von selbst; bei der Plasmolyse beobachtet man immer die einzelnen Zellen und nur, wenn die verschiedenen Zellen desselben Gewebes sehr genau dieselbe Turgorkraft besitzen, lässt sich mit Sicherheit eine Mittelzahl bestimmen. Dagegen ist die Haut der ausgewachsenen Zellen, falls sie überhaupt für die erstere Methode brauchbar sind, starr, und es ändert sich das Volumen der Zelle selbst in der Salzlösung nicht; die Elasticität der Zellhaut, welche bei der zweiten Methode immer mit im Spiele ist, ist hier also völlig ausgeschlossen, die Grunderscheinung also eine viel einfachere. Dazu kommt, dass die Kreuzstreifen aus ungleichnamigen, zum Theil activen, zum Theil passiven Geweben zusammengesetzt sind, was die Erscheinung selbstverständlich erheblich complicirt.

Bei der Beurtheilung beider Methoden spielt aber die Dauer der Versuche eine Hauptrolle. In der plasmolytischen Methode muss das Eintreten des Gleichgewichtszustandes abgewartet werden, in der anderen Methode aber braucht der Aufenthalt in den Lösungen nur gerade so lange zu dauern, bis mit Sicherheit zu entscheiden ist, ob der Streifen sich auf- oder abrollt, wozu meist wenige Minuten genügen. Aus später zu erwähnenden Gründen ist es nutzlos, die Versuche nach dieser Entscheidung noch weiter fortzusetzen, und es leuchtet ein, dass dieselbe also getroffen wird, lange bevor das Gleichgewicht zwischen inneren und äusseren Lösungen eingetreten sein kann. Dadurch aber übt die Diffusionsgeschwindigkeit der gelösten Stoffe, d. h. die Geschwindigkeit, mit der sie in das Markgewebe eindringen, einen nicht zu vernachlässigenden Einfluss auf das Resultat aus, demzufolge eigentlich nur für Stoffe, welche annähernd mit derselben Schnelligkeit eindringen wie Kalisalpeter, vollkommen genaue Resultate erhalten werden. Langsam diffundirende Lösungen können am Ende des Versuches im Markgewebe noch nicht dieselbe Concentration erreicht haben, welche sie ausserhalb besitzen, und üben also eine etwas zu schwache Wirkung aus; ihre Affinität zu Wasser wird demnach etwas zu niedrig gefunden. Glücklicherweise ist diese Fehlerquelle nun für eine relativ kleine Anzahl von Verbindungen von wirklichem Einfluss, und für diese Fälle ist die plasmolytische Methode, bei der dieser Fehler selbstverständlich ausgeschlossen ist, unbedingt vorzuziehen.

Das Material für die Methode der Gewebespannung, kräftig wachsende Sprossgipfel, ist nur im Frühjahr und im Hochsommer in genügender Menge zu haben während die andere Methode in

jeder Jahreszeit angewandt werden kann. Endlich ist die erstere auf das Studium neutraler Lösungen beschränkt, indem saure Flüssigkeiten die Protoplaste der wachsenden Zellen viel zu rasch verändern. Die plasmolytische Methode lässt aber, bei geeigneter Wahl der zu plasmolysirenden Zellen, auch die Untersuchung schwacher Säuren und saurer Salze zu.

Aus allen diesen Gründen empfehle ich für spätere Untersuchungen hauptsächlich die plasmolytische Methode als Mittel zur Bestimmung isotonischer Coëfficienten; sie führt immer leicht und sicher zum Zweck und ihre Resultate sind bei genügender Reinheit der Lösungen so genaue, wie man sie zu theoretischen Folgerungen nur wünschen darf.

Zur richtigen Beurtheilung meiner Arbeit möchte ich an dieser Stelle Einiges über den historischen Gang meiner Untersuchung einschalten. Die Ausbildung der plasmolytischen Methode, welche jetzt äusserst einfach ist, ist anfangs auf zahllose Schwierigkeiten gestossen, und es schien mir längere Zeit unmöglich, ihr eine hinreichende Genauigkeit zu geben. Unter diesen Umständen habe ich die Methode der Gewebespannung versucht, und mit ihr die isotonischen Coëfficienten der wichtigsten Stoffe aus dem Zellenleben ermittelt. Später trat dann die Nothwendigkeit doch an mich heran, die Zahlen auch auf plasmolytischem Wege bestimmen zu können und es gelang mir endlich, die Schwierigkeiten zu beseitigen. Von den verschiedenen denkbaren Formen plasmolytischer Methoden, welche ich ausprobirt habe, bevor mir die Anwendung der sogenannten vergleichenden Methode gelang, hat mich eine zu einigen später zu beschreibenden Resultaten geführt. Diese wird im zweiten Abschnitt, § 3, als Transport-Methode beschrieben werden, ist aber jetzt, nachdem die vergleichende plasmolytische Methode ausgebildet wurde, wegen ihrer sehr unbequemen Ausführung gänzlich bei Seite gestellt.

Dieser historische Gang hat auch in anderer Richtung Einfluss auf meine Versuche ausgeübt. Während der Bestimmungen nach der Methode der Gewebespannung hatte ich noch keinen Grund, zu erwarten, dass die isotonischen Coëfficienten alle in einem so einfachen Verhältnisse zu einander stehen würden; ich bestimmte also nur die Salpeterwerthe für Lösungen gleicher Stärke und zwar diese, wie meine Lösungen dargestellt waren, nach Aequivalenten. Erst, als dieser Theil meiner Arbeit völlig abgeschlossen war, lernte ich die Resultate nach Molecülen berechnen, und die einfache Anordnung der Stoffe nach steigenden isotonischen Coëfficienten führte

mich dann zur Erkennung der Gruppen und der zwischen diesen herrschenden Verhältnisse (vergl. S. 139). Diese Erkennung tauchte zuerst in der Form verschiedener Hypothesen auf, und zur Entscheidung über ihre Richtigkeit führte ich dann im Winter nach der plasmolytischen Methode eine Reihe weiterer Bestimmungen aus.

Nachdem einmal das Gesetz der isotonischen Coëfficienten, wenn auch nur hypothetisch, gefunden war, liess sich für jeden zu studirenden Körper im Voraus der isotonische Coëfficient bestimmen und daraus berechnen, welche Concentration zur Plasmolyse in jedem einzelnen Fall erforderlich sein würde. Bei meinen früheren Bestimmungen hatte ich dieses immer durch Vorversuche feststellen müssen, seitdem habe ich solche fast nie wieder angestellt, sondern immer die Lösungen nach der Rechnung direct für die Hauptversuche bereitet. Dass der Erfolg mich dabei niemals täuschte, gab mir allmälig die Gewissheit, dass die Gesetze der isotonischen Coëfficienten innerhalb der Grenzen meiner Studien, auch für noch nicht studirte Verbindungen volle Gültigkeit haben. Und dass die ohne ihre Kenntniss nach der Methode der Gewebespannung ermittelten Zahlen die Gesetze an und für sich in allen Einzelheiten deutlich erkennen lassen, giebt mir die feste Ueberzeugung, dass sie in ihrem vollen Umfange als rein empirische Gesetze gelten dürfen.

Abschnitt II. **Bestimmung der isotonischen Coëfficienten nach der plasmolytischen Methode.**

§ 1. *Beschreibung der vergleichenden plasmolytischen Methode.*

Lösungen verschiedener Salze, deren Concentration noch gerade hinreicht, um das Protoplasma in den Zellen desselben Gewebes von der Zellhaut an einer kleinen Stelle abzuheben, in diesen Zellen also den geringsten Grad der Plasmolyse hervorzurufen, ziehen das Wasser mit derselben Kraft aus diesen Zellen an und haben demnach die gleiche Affinität zu Wasser. Auf diesen Satz beruht die Anwendung der plasmolytischen Methode zur Bestimmung der isotonischen Coëfficienten; seine Berechtigung habe ich im vorigen Abschnitt dargethan.

Bei der Ausführung der Versuche kommt es also darauf an, jedesmal mit demselben Gewebe jene Concentrationsgrenze für Kalisalpeter und für den zu studirenden Körper zu bestimmen; das Verhältniss dieser beiden Zahlen ist gleich dem Verhältnisse der isotonischen Coëfficienten der beiden Körper, vorausgesetzt, dass die Concentrationen in Molecülen ausgedrückt waren.

Reine Lösungen vorausgesetzt, hängt nun die Zuverlässigkeit, und die erreichbare Genauigkeit dieser Methode vorwiegend, ja fast ausschliesslich von der richtigen Wahl des zur Plasmolyse bestimmten Gewebes ab, und wir wollen also jetzt die Anforderungen kennen lernen, welche an ein solches zu stellen sind.

Die erste Bedingung ist, dass die geringsten Spuren von Plasmolyse leicht und sicher wahrnehmbar sind. Die Durchmusterung von Präparaten, welche mehrere Hundert Zellen enthalten, führt nur bei relativ schwacher (100—200 maliger) Vergrösserung zu einem raschen Ueberblick und zur sicheren Beurtheilung des Grades der Plasmolyse in der ganzen Ausdehnung des Präparates. Es muss also bei dieser Vergrösserung in jeder Zelle auf dem ersten Blick zu entscheiden sein, ob ihr Protoplast allseitig der Zellhaut anliegt oder an einer kleinen Stelle sich losgelöst hat. Dieses gestatten in vollständiger Weise, so weit mir bekannt, nur Oberhäute, und unter diesen nur solche mit gefärbtem Zellsaft. In Oberhautszellen kann die Plasmolyse aber hauptsächlich unter zwei verschiedenen Formen anfangen. In dem einen Falle hebt sich der Protoplast zuerst an den Ecken resp. an einer Ecke ab, in dem anderen Falle zunächst auf die Fläche der die Oberhaut nach aussen begrenzenden oder der an das innere Gewebe angrenzenden Wand. Welcher Fall eintreten wird, hängt zum Theil von der Natur der Zellen ab, zum Theil aber von der Art und Weise, wie die Salszlösung eindringt. Präparate, welche parallel mit der Oberfläche des Organes geschnitten sind, werden im ersteren Fall die geringste Spur von Plasmolyse sogleich unter dem Mikroskop verrathen, im letzteren aber nur bei sehr genauer Betrachtung mit scharfer Vergrösserung als plasmolysirt erkannt werden können. Gewebe, welche regelmässig oder auch nur häufig diese letztere Form der Contraction aufweisen, sind also für unsere Methode einfach unbrauchbar.

Findet die erste Ablösung der Protoplaste an einer Ecke der Zelle statt, so sieht man hier das Protoplasma als eine äusserst feine scharfe Linie zwischen dem Zellsaft und der eigedrungenen Salzlösung. Sind beide farblos, so entzieht sich diese Linie der Beobachtung nur zu leicht, ist dagegen der Zellsaft gefärbt, so fällt die schroffe Grenze zwischen der dunklen Farbe dieses Saftes und der farblosen Salzlösung sogleich auf, und es wird die Beobachtung der geringsten Spuren von Plasmolyse zu einer sehr leichten und sicheren Operation.

Eine zweite Bedingung ist, dass die sämmtlichen Zellen des betreffenden Gewebes in Lösungen desselben Salzes bei genau derselben Concentration in den plasmolytischen Zustand übergehen.

In zahlreichen Oberhäuten ist die zur Ablösung des Protoplasten erforderliche Stärke der Lösung in den einzelnen Zellen sehr verschieden, wie man deutlich erkennt, wenn man zahlreiche Präparate in Lösungen desselben Salzes, aber verschiedener, z. B. jedesmal um 0.01 Aeq. höherer Concentration bringt. Der Uebergang ist dann kein plötzlicher sondern nur ein allmäliger und es liegen zwischen den schwachen Lösungen, welche in keiner Zelle, und den stärkeren, welche in allen Zellen Plasmolyse hervorrufen, eine Reihe solcher, in der nur ein grösserer oder geringerer Theil der Zellen plasmolysirt ist. In diesen Fällen Mittelzahlen zu schätzen, lässt sich nicht mit hinreichender Genauigkeit ausführen; ich fordere deshalb einen solchen Grad der Gleichheit, dass völliger Uebergang sämmtlicher Zellen in den plasmolytischen Zustand bei einem Concentrationsunterschiede von 0.01 bis 0.02 Aeq. Kalisalpeter mit Sicherheit erwartet werden darf. Freilich wird hierdurch die Wahl des Materials in sehr erheblicher Weise beschränkt.

Es ist selbstverständlich, dass sämmtliche zu einem Versuche zu verwendenden Präparate nicht nur von derselben Pflanze, sondern von demselben Organ und in unmittelbarer Nähe von einander geschnitten werden. Es werden dadurch individuelle Unterschiede, welche zwischen verschiedenen Exemplaren und zwischen Organen ungleichen Alters erfahrungsmässig häufig obwalten, völlig ausgeschlossen. Hieraus geht aber die Bedingung hervor, dass die Organe hinreichend gross sein müssen, um jedesmal die erforderliche Anzahl von Präparaten zu liefern.

Endlich sind nur Oberhäute mit grossen Zellen zum bequemen Studium geeignet.

Diesen Anforderungen genügen von den Pflanzen, die ich bis jetzt untersuchen konnte, die folgenden, und zwar der Reihe nach in abnehmendem Maasse:

1. *Curcuma rubricaulis*, die Epidermis auf der Aussenseite der erwachsenen Blattscheide der dunkelrothen Form dieser Pflanze.

2. *Tradescantia discolor*, die violetten Zellen der unterseitigen Epidermis der Blätter, und zwar nur die Zellen auf und unmittelbar neben dem Mittelnerven.

3. *Begonia manicata*, die rothen Oberhautszellen der oberen ringförmigen Schuppen der Blattstiele, in der Nähe der Spreite, und die rothen Flecke in der Oberhaut der ganzen Blattstiele, welche um die Basis der Schuppen herum liegen. Aber nur die am stärksten gefärbten Exemplare dieser Art boten mir ein befriedigendes Material.

Die *Begonia manicata* liefert bei weitem nicht so sichere und so genaue Resultate, wie die beiden anderen Arten, nicht selten kommt es vor, dass eine erhebliche Zahl der mit ihr angestellten Versuche sich bei der Inspection der Präparate als unbrauchbar erweisen. Sie ist aber unerlässlich, wenn es sich um das Studium von Säuren und sauren Salzen handelt.

Diese zur Aufsuchung der schwächsten plasmolysirenden Concentration oder der „*plasmolytischen Grenzlösung*" bestimmten Pflanzen werde ich *Indicatorpflanzen* nennen, wie man bei der Titrirmethode die zur Erkennung der Neutralitätsgrenze angewandten Farbstoffe Indicatoren nennt. Bei jedem Versuche ist die zur Anwendung gekommene Indicatorpflanze anzugeben. Ueber die Wahl und die Beurtheilung der Präparate möchte ich hier aber noch einige für sämmtliche Versuche geltende Détails vorausschicken.

1. *Curcuma rubicaülis.* Die langen steifen Scheiden der Wurzelblätter umfassen die unteren Theile der jüngeren Blätter und verhüllen diese. Nur die älteren Blätter dienten zu meinen Versuchen, welche fast alle im Winter ausgeführt wurden. Die Scheiden sind der Länge nach von zahlreichen dünnen geraden Nerven durchzogen, auf welchen die Oberhautszellen eine mehr gestreckte Form haben als zwischen ihnen. Die mikroskopischen Präparate sind dadurch in eine grössere oder kleinere Anzahl von Fächern getheilt, welche die Durchmusterung des Ganzen in sehr wesentlicher Weise erleichtern, indem man die einzelnen Abtheilungen nach einander der Länge nach durchgehen kann. Die plasmolytische Grenzlösung ist für die Oberhautszellen der Nerven etwas schwächer als für die zwischenliegenden; erstere werden aus diesem Grunde von der Beobachtung ausgeschlossen. Die Zellen selbst sind länglich viereckig oder sechseckig, etwa 0.035—0.045 mm lang, die Plasmolyse fängt in ihnen fast stets an einem der beiden Enden an, und die plasmolytische Grenzlösung ist stets für sämmtliche Zellen eines Präparates (mit Ausnahme der Oberhautszellen der Nerven) bis auf 0.01 Aeq. Kalisalpeter dieselbe. Nur selten kommt es vor, dass die Grenzlösung nicht mit dieser Schärfe indicirt ist; solche Versuche sind als misslungen zu betrachten.

Da, wie wir später sehen werden, für jeden einzelnen Versuch in der Regel zwölf vergleichbare Präparate erforderlich sind, von denen sechs in die Salpeterlösungen und die sechs anderen in die Lösungen des zu studirenden Salzes gebracht werden, so hat man bei dem Anfertigen der Schnitte sehr auf ihre Vergleichbarkeit zu achten. In erster Linie müssen diese so nahe an einander wie

möglich aus dem Blatte geschnitten werden, da die plasmolytische Grenzlösung an verschiedenen Stellen desselben Blattes geringe Differenzen (von etwa 0.01—0.03 Aeq. KNO_3) zeigt. Zu diesem Zwecke zeichne ich auf die Oberfläche der Blattscheide, mit feinem Bleistift oder mit dem Messer, ein längliches Viereck, und theile dieses der Länge nach in zwei und der Quere nach in sechs Theile. Es entstehen zwölf Abtheilungen von gleicher Grösse, welche ich etwa zu 1 qmm wähle; jede Abtheilung liefert, mit dem Rasirmesser vom unterliegenden Gewebe isolirt, ein Präparat. Die sechs Präparate des einen Längsfaches kommen in die Salpeterlösungen, die des anderen in die anderen Lösungen, die der Blattspitze am nächsten liegenden in die schwächsten Lösungen und so der Reihe nach in Flüssigkeiten höherer Concentration. Sind die Concentrationen vorher derart berechnet, dass die sechs Lösungen des zu studirenden Körpers voraussichtlich isotonisch sind mit den sechs Salpeterlösungen, so kommen bei dieser Anordnung jedesmal zwei neben einander geschnittene Präparate in zwei isotonische Lösungen. In einzelnen Versuchen habe ich auch alle Präparate in einer Längsreihe geschnitten und sie der Reihe nach abwechselnd in die Salpeterlösungen und in die Lösungen des anderen Salzes gebracht, in einer Weise, welche ich bei der folgenden Art noch näher beschreiben werde.

2. *Tradescantia discolor.* Die langen schmalen Blätter dieser Pflanze zeigen auf der Unterseite meist einen deutlichen breiten Mittelnerven. Die Oberhautszellen auf diesem Nerven sind länglich sechseckig und etwa 0.15 mm lang, die auf der übrigen Blattfläche sind gleichfalls sechseckig, aber isodiametrisch. In den letzteren ist die plasmolytische Grenzlösung in den einzelnen, neben einander liegenden Zellen sehr verschieden, und es kommt dazu häufig eine Abhebung des Protoplasten von der Innenwand, statt von den Ecken der Zellen. Aus beiden Gründen ist nur die Oberhaut auf und unmittelbar neben dem Mittelnerven für die vergleichende plasmolytische Methode brauchbar.

Die Mitte des Mittelnerven führt keine Stomata, die Zellen sind hier äusserst gleichmässig gebaut und haben sehr genau dieselbe plasmolytische Grenzlösung, d. h. die geringsten Spuren von Plasmolyse treten in allen bei genau derselben Concentration ein; die Genauigkeit ist fast ebenso gross wie bei *Curcuma.* Dasselbe gilt von den Zellenreihen neben dem Mittelnerven, nur dass hier Spaltöffnungen vorkommen. Dagegen sind die Zellen auf und neben der Mitte einander in diesen Beziehungen nicht gleich, und man muss also

für jeden einzelnen Versuch entweder die eine oder die andere Art von Zellen wählen. Daraus folgt, dass sämmtliche Präparate für einen Versuch in einer Längsreihe auf oder neben dem Mittelnerven geschnitten werden müssen. Durch feine Querschnitte in Entfernungen von 1—1½ mm werden nun zuerst die Grenzen der Präparate markirt, dann diese mit dem Rasirmesser vom übrigen Gewebe des Blattes getrennt. Der Reihe nach kommen sie nun abwechselnd in die Lösungen des Salpeters und der zu studirenden Verbindung, und zwar von oben nach unten in absteigender Folge der Concentrationen. Bei richtiger vorheriger Berechnung dieser letzteren gelangen also in Lösungen isotonischer Concentration stets Präparate, welche in unmittelbarer Nähe von einander dem Blatte entnommen sind.

Die plasmolytische Grenzlösung ist nicht überall auf dem Mittelnerven dieselbe, sie nimmt von oben nach unten stetig zu, in der Mitte am langsamsten, in der Nähe der Basis ziemlich rasch. Nach sehr zahlreichen Bestimmungen an je einem Blatte nimmt sie in der Mitte auf Entfernungen von 2—3 cm um etwa 0.01 bis 0.02 Aeq. KNO_3 zu. Da nun die ganze Reihe der Präparate zu einem Versuch meist nur 1—2 cm lang ist, und, wie soeben dargethan, gewöhnlich nur einander nahe gelegene Präparate den Ausschlag geben, kann diese Fehlerquelle als unerheblich betrachtet werden, obgleich sie den Werth der *Tradescantia* als Indicatorpflanze geringer macht als den der *Curcuma*.

Tradescantia discolor kann man aber zu jeder Jahreszeit haben, was von *Curcuma rubricaulis* leider nicht gilt.

Am Rande der Präparate beobachtet man häufig einzelne Zellen mit viel stärkerer Plasmolyse als alle übrigen aufweisen; solche Zellen sterben aus irgend einem Grunde ab und müssen von der Bestimmung der plasmolytischen Grenzconcentration durchaus ausgeschlossen werden. Je länger die Präparate in den Lösungen verweilen, um so grösser wird die Zahl solcher abweichender Zellen, um so stärker ihre Plasmolyse. Daher muss die Dauer dieses Aufenthalts, d.h. also des ganzen Versuches wo möglich auf die Zeit beschränkt werden, welche zum vollständigen Eindringen der Lösungen in alle Theile der Präparate erforderlich ist. Dazu genügen aber meist 1—2 Stunden und ich habe meine Versuche nur in besonderen Fällen länger als 4—6 Stunden dauern lassen. Dieselben Erscheinungen beobachtete ich, wenn auch in viel schwächerem Maasse, bei *Curcuma rubricaulis*.

3. *Begonia manicata*. Die Zellen von *Curcuma* und von *Tra-*

descantia eignen sich zur Ermittelung isotonischer Coëfficienten in allen den Fällen, wo man neutrale Verbindungen zu untersuchen hat. Freie Säuren und saure Salze ertragen beide nicht, wenn wenigstens die saure Reaction eine gewisse niedrige Grenze überschreitet. Von sauer reagirenden Substanzen habe ich mit *Tradescantia* keine, mit *Curcuma* nur eine Verbindung (einfach saures citronensaures Kalium, K_2 HC_6 H_5 O_7) mit Erfolg studiren können; überhaupt ist *Tradescantia* sauer reagirenden Flüssigkeiten gegenüber viel empfindlicher als *Curcuma*. Auch alkalische Reaction ertragen beide auf die Dauer nicht.

Es würden dadurch Säuren und saure Salze vollständig von meinen Untersuchungen ausgeschlossen worden sein, wenn ich nicht in *Begonia manicata*, nach vielfachem Suchen, eine Indicatorpflanze kennen gelernt hätte, welche wenigstens durch schwache Säuren während der Dauer meiner Versuche nicht gefährdet würde. Sie erträgt Säuren und saure Salze, welche schwächer sind als Oxalsäure, stundenlang ohne wirklichen Nachtheil für das Resultat meiner Versuche.

Für stärkere Säuren sowie für freie Alkalien habe ich bis jetzt noch keine Indicatorpflanze ausfindig machen können. Dadurch ist leider eine wichtige theoretische Seite unserer Frage meinen Forschungen entgangen; doch pflegen solche Substanzen glücklicherweise in den lebenden Zellen nicht vorzukommen, und die Kenntniss ihrer isotonischen Coëfficienten ist somit für die Analyse der Turgorkraft nicht erforderlich.

Die *Begonia manicata* bietet bei weitem nicht ein so reichliches und so gleichmässiges Material, wie *Curcuma* und *Tradescantia*, und ich habe sie deshalb nur ausnahmsweise zur Ermittelung der isotonischen Coëfficienten neutraler Verbindungen angewandt.

Während ihres Aufenthaltes in sauren Flüssigkeiten sterben die Protoplaste pflanzlicher Zellen allmälig [1]) um so langsamer je schwächer und verdünnter die Säure ist. Bei stärkeren Säuren tritt der Tod so rasch ein, dass die Bestimmung der isotonischen Concentration völlig unmöglich wird, in schwächeren Säuren halten die Zellen der *Begonia* aber noch Stunden lang aus, nachdem die Plasmolyse in ihnen bereits eingetreten ist. Wird in dieser Zwischenzeit ein constanter Grad der Plasmolyse erreicht, so weisen die Versuche die isotonische Concentration in der üblichen Weise

1) Eingehende Mittheilungen über diese Erscheinung behalte ich mir für einen anderen Aufsatz vor.

an und in solchen Fällen können die Bestimmungen also ausgeführt werden. Ist die saure Reaction aber eine so starke, dass sie direct schädlich ist, so wird ein solches Gleichgewicht nicht erreicht, die Protoplaste fahren stets fort, sich zu contrahiren und sich weiter von der Wand abzulösen. In solchen Fällen ist also eine Bestimmung der isotonischen Concentration nicht möglich oder doch sehr ungenau. Auch in schwachen Säuren und sauren Salzen findet später eine solche anhaltende Contraction statt, aber da diese bei *Begonia manicata* gewöhnlich erst 10—12 Stunden nach dem Anfange des Versuches anfängt, ist sie bei der üblichen Dauer der Experimente (2—4 Stunden) nicht zu befürchten. Controlbeobachtungen nach etwa 10 Stunden haben dann nöthigenfalls den Beweis zu liefern, dass jene Erscheinung während des Versuches noch nicht angefangen hatte. Bei *Curcuma* und zumal bei *Tradescantia* fängt jene stetige Contraction in sauren Lösungen fast stets gleich im Anfange des Versuches an; dies ist einer der Gründe, weshalb diese Arten für das Studium saurer Substanzen, wie gesagt, nicht geeignet sind.

Am Rande der Präparate sterben einzelne Zellen gewöhnlich auffallend schnell, ihre Protoplaste contrahiren sich sehr stark; sie werden von den Beobachtungen stets ausgeschlossen.

Es erübrigt noch, die beiden brauchbaren Zellenformen der *Begonia manicata* gesondert zu beschreiben.

In der Nähe der Spreite sieht man rings um den Blattstiel einige dunkelrothe, am Rande feine Wimpern tragende, den Blattstiel umfassende Schuppen. Ihre Oberhaut besteht, mit Ausnahme des basalen und des an die Wimpern grenzenden Theiles, aus sehr gleichmässigen, länglich vier- bis sechseckigen Zellen mit tiefrothem Zellsaft. Nur dieser mittlere Theil der Oberhaut wird zur Herstellung der Präparate benutzt, welche nun der Reihe nach abwechselnd in Lösungen von Salpeter und einer anderen Verbindung, und von steigender Concentration gelangen, wie dieses bei den beiden vorigen Arten ausführlicher angegeben wurde.

Weiter nach unten trägt der Blattstiel schmälere kleinere Schuppen, um so kleiner und in um so grösserer Entfernung von einander, je näher man der Basis des Stieles kommt. Am Grunde eines jeden solchen Schuppens sind die Oberhautszellen des Stieles roth gefärbt, während zwischen diesen Flecken die Epidermis farblos ist. Diese rothen Flecken sind nun auf dem mittleren Theile des Stieles einander hinreihend gleich, d. h. haben nahezu dieselbe plasmolytische Grenzlösung und können also für unsere Methode Verwen-

dung finden. In jedem einzelnen Fleck ist die Gleichheit der Zellen keine so grosse, indem die Grenzlösung mit zunehmender Entfernung von dem Schuppen sich ändert. Es werden aus diesem Grunde jedesmal die äusseren und inneren Zellen eines jeden Fleckens ausgeschlossen und zur grösseren Sicherheit in jede Lösung stets zwei oder drei Präparate gebracht. Es braucht nach diesen Bemerkungen wohl keine weitere Ausführung, dass die oberen Schuppen diesen Flecken als Indicatorgewebe weit vorzuziehen sind. Die einzelnen Präparate kommen wieder der Reihe nach, von oben nach unten, in die Lösungen, wie bei den anderen Arten beschrieben wurde.

Bei der Anwendung von *Begonia* als Indicatorpflanze habe ich es mir zur Regel gemacht, Mittelzahlen aus grösseren Versuchreihen zu fordern, als bei den meisten Versuchen mit *Curcuma* und *Tradescantia* nöthig war.

Ich möchte disen Paragraphen nicht schliessen, ohne mein Bedauern darüber auszusprechen, dass es mir trotz vielfacher Bemühungen nicht gelungen ist, eine grössere Auswahl von Indicatorpflanzen ausfindig zu machen und namentlich eine solche zu entdecken, welche stärkere Säuren und freie Alkalien zu untersuchen gestattet. Hoffentlich werden Andere hierin glücklicher sein; ich habe in vier Jahren nur diese finden können.

§ 2. *Versuche nach der vergleichenden plasmolytischen Methode.*

Für diese Versuche habe ich kleine Gestelle anfertigen lassen, in denen je sechs kleine Glascylinder in einer Reihe aufgestellt werden konnten. Diese Cylinder waren etwa 1,5—2 cm weit und 10 cm hoch; ihr Volumen war 15—20 CC. In jedes Röhrchen brachte ich 10—15 CC einer Lösung, worauf es gewöhnlich mit einem Stopfen lose geschlossen wurde, um einer Concentrationsänderung durch Verdunstung vorzubeugen. In jede Lösung kam dann das dafür nach § 1 bestimmte Präparat; diese wurde nicht vorher in Wasser gebracht oder sonst abgewaschen, denn das Volumen der Lösung genügte, um den Inhalt der durchschnittenen Zellen, der sich selbstverständlich mit der Lösung mischte, völlig unschädlich zu machen.

Die Dauer des Aufenthaltes in den Lösungen war in der Regel zwei Stunden, wo nicht, so ist dieses bei den einzelnen Versuchen erwähnt. Die Temperatur war gewöhnlich 13—15° C.; die Versuche sind im Winter im geheizten Zimmer angestellt. Am Schlusse des Versuches wurden die Präparate mikroskopisch untersucht, wobei jedes unter Deckglas in der eigenen Lösung blieb.

Die schwächste zur Plasmolyse erforderliche Concentration wechselt nach den individuellen Blättern und nach der Lage des Präparates auf dem Blatte, überschritt aber in meinen Versuchen mit *Curcuma* und *Tradescantia* fast nie die Grenzen 0.10 und 0.16 Aeq. Kalisalpeter. Ich habe deshalb für jeden Versuch die sechs folgenden Lösungen von Kalisalpeter benutzt: 0.10, 0.11, 0.12, 0.13, 0.14, 0.15 Aeq., und diesen in seltenen Fällen 0.16 statt 0.10 zugefügt. Es war durch diese Anordnung eine vorherige Bestimmung der Grenzlösung des betreffenden Blattes überflüssig. Von dem zu untersuchenden Salze wurden gleichfalls sechs Lösungen verschiedener Concentration hergestellt und zwar zumeist derart, dass entweder alle sechs oder doch die beiden mittleren mit den correspondirenden Salpeterlösungen nach vorheriger Berechnung isotonisch waren. Die Berechnung ergiebt sich leicht aus der S. 138 genannten Regel für die isotonischen Coëfficienten.

Die Erfahrung hat gelehrt, dass häufig ein einzelner Versuch zur Ermittelung des Coëfficienten ausreicht; jedoch habe ich deren gewöhnlich wenigstens zwei bis drei angestellt und aus diesen das Mittel genommen, weil ja kleine Versuchsfehler und geringe Unterschiede zwischen den einzelnen auf demselben Blatte neben einander geschnittenen Präparaten nicht immer völlig ausgeschlossen sind.

Die Lösungen habe ich nach Aequivalenten dargestellt, wie solches bei Anwendung der Titrirmethode üblich ist. Es hat dies keinen Nachtheil, weil ja die Concentration nach Molecülen sich aus der nach Aequivalenten stets in so äusserst einfacher Weise berechnen lässt. Bereitung und Controle der Reinheit meiner Lösungen geschahen nach der Titrirmethode; als Grundlage benutzte ich zehntelnormale Oxalsäure, zur Ausmessung von Säuren eine auf jene gestellte Lösung von Kalihydrat. Bei der Darstellung der Titrirflüssigkeiten sowie bei der Ausführung der verschiedenen Operationen habe ich das vorzügliche Werk Mohr's „Lehrbuch der chemisch-analytischen Titrirmethode" befolgt.

Chemische Reinheit der Lösungen ist selbstverständlich durchaus erforderlich, um richtige Resultate zu erlangen. Ich habe dabei nach bekannten Vorschriften gearbeitet und werde bei jedem Körper nur kurz die Bereitungsweise anzuführen haben, und verweise im Uebrigen auf Mohr's citirtes Werk, auf Fresenius' „Anleitung zur quantitativen chemischen Analyse" und auf Würtz' „Dictionnaire de Chemie", denen ich meine Vorschriften entnommen habe.

Erklärung der Tabellen. Jede Tabelle besteht aus zwei Hälften, die linke enthält die Hauptversuche, die rechte die mit den correspondirenden Präparaten ausgeführten Controlversuche in den Salpeterlösungen. Jede horizontale Zeile bezieht sich auf Einen Versuch; die verschiedenen Versuche sind zumeist an verschiedenen Tagen und fast immer mit verschiedenen Blättern der Indicatorpflanze angestellt. Von den jedesmal angewandten zwölf Lösungen führe ich nur jene an, welche die gesuchte Grenze umschliessen.

Im Kopfe der Tabellen sind die Namen der untersuchten Verbindungen und darunter die Concentrationen der einzelnen Lösungen nach Aequivalenten (für die Zuckerarten nach Molecülen) aufgeführt. In den correspondirenden Spalten bedeutet *n*, dass die Zellen am Ende des Versuches nicht plasmolysirt waren; *hp*, dass nahezu die Hälfte und *p*, dass sämmtliche oder nahezu sämmtliche Zellen in den plasmolytischen Zustand übergegangen waren. Versuche, in denen nicht leicht zwischen diesen drie Fällen zu unterscheiden war, sind stets von den Tabellen ausgeschlossen worden. In den I. C. überschriebenen Spalten findet man das Resultat jedes einzelnen Versuches, nämlich die schwächste zur Plasmolyse erforderliche Concentration als „Isotonische Concentration" aus den daneben aufgeführten Beobachtungen abgeleitet. Das Verhältniss der isotonischen Concentration des Kalisalpeters zu der entsprechenden des verglichenen Körpers findet man in der letzten Spalte angegeben, jedoch so, dass hier die Concentrationen nach Molecülen statt nach Aequivalenten gerechnet sind. Um dieses zu erreichen, brauchte man nur den Quotienten aus den in die I. C. überschriebenen Spalten eingetragenen Zahlen mit der Valenz der betreffenden Verbindung zu multipliziren.

Nach dem in der Einleitung Gesagten ist es klar, dass diese „Verhältnisse" die Salpeterwerthe solcher Lösungen vorstellen, welche im Liter Ein Molecül, in Grammen ausgedrückt, enthalten. Sie brauchen also nur mit dem isotonischen Coëfficienten des Salpeters (3) multiplicirt zu werden, um Coëfficienten für die untersuchte Verbindung zu ergeben (S. 142). Ich habe nun aus sämmtlichen Versuchen zunächst den Mittelwerth dieses Verhältnisses abgeleitet und daraus den isotonischen Coëfficienten berechnet. Beide Zahlen finden sich unter jeder Tabelle angeführt.

Ich lasse jetzt erst die Versuche mit neutralen, und dann jene mit sauren Lösungen folgen und zwar in einer Reihenfolge, welche sich auf das S. 138 genannte Resuutat bezieht.

I. *Rohrzucker.*

$C_{12} H_{22} O_{11}$. Molec. Gewicht 342.

Die Lösungen wurden aus reinem Kandiszucker durch Auflösen bestimmter Gewichtsmengen in Wasser hergestellt; sie enthielten im Liter so viele Mal 342 Gramm Zucker als über jede Spalte angegeben ist.

Der Kandiszucker enthielt pro Gramm weniger als 1 Milligramm Asche.

Als Indicatorpflanze diente in den beiden ersten Versuchen *Curcuma rubricaulis,* im letzten *Tradescantia discolor.* Versuch I dauerte 7 Stunden; Versuch II und III 4 Stunden, doch wurde nach 8 Stunden festgestelt, dass die Lage der gesuchten Concentration sich nicht verschoben hatte.

	Rohrzucker.				Kalisalpeter.				
	0.20	0.22	0.24	I. C.	0.12	0.13	0.14	I. C.	Verhältniss
I	n	hp	p	0.22	n	hp	p	0.13	0.591
II	n	p	p	0.21	n	p	p	0.125	0.595
III	n	p	p	0.21	n	hp	p	0.13	0.619

Im Mittel ist demnach für Rohrzucker:

Das Verhältniss zwischen den isotonischen Concentrationen . . . . 0.602.

Der isotonische Coëfficient. . . . . 1.81.

II. *Invertzucker.*

Gemenge der isomeren Kohlenhydrate, Dextrose und Levulose, $C_6 H_{12} O_6$. Molec. Gewicht 180.

Nach Sachsse, „Die Eiweisskörper, Kohlenhydrate und Farbstoffe, S.194", ist der reducirende Zucker der Pflanzen in allen gut untersuchten Fällen ein Gemenge gleicher Theile Dextrose und Levulose von derselben Natur, wie dasjenige, das bei der Inversion aus Rohrzucker entsteht. Es war aus diesem Grunde wichtig, von den reducirenden Zuckerarten den Invertzucker zur Bestimmung des isotonischen Coëfficienten auszuwählen.

Reiner aschenfreier Kandiszucker wurde mit etwas Schwefelsäure im Wasserbade bei 50° C. während zwei Tage invertirt, und dann

einige Tage bei 15—20° C. aufbewahrt. Aus der farblosen Flüssigkeit wurde die Schwefelsäure durch eine im Voraus berechnete Menge einer gesättigten Barytlösung niedergeschlagen und durch Filtration abgeschieden; die jetzt neutrale Lösung sammt den Waschwässern auf ein bestimmtes Volumen gebracht und der Gehalt an Invertzucker mit Fehling'scher Lösung bestimmt. Es zeigte sich, dass eine vollkommene Inversion stattgefunden hatte, da sämmtlicher benutzter Rohrzucker als Invertzucker zurückgefunden wurde. Aus der klaren aschenfreien 8 procentigen Lösung wurden nun durch Verdünnung die erforderlichen Lösungen nach Molecülen hergestellt. Die zweite Horizontalzeile der Tabelle giebt also an, wie viel Mal 180 Gramm Zucker die Lösungen pro Liter enthielten.

Als Indicatorpflanze diente *Curcuma rubricaulis*. Versuchsdauer 4 Stunden.

	Invertzucker.						Kalisalpeter.					
	0.18	0.195	0.21	0.225	0.24	I. C.	0.12	0.13	0.14	0.15	I. C.	Verhältniss
I	—	n	n	hp	p	0.225	—	n	p	hp	0.14	0.622
II	n	hp	p	—	—	0.195	n	p	—	p	0.125	0.641
III	—	n	hp	p	p	0.21	n	hp	—	p	0.13	0.629

Im Mittel ist also für Invertzucker:

das Verhältniss zwischen den isotonischen Concentrationen . . . . 0.627.

der isotonische Coëfficient . . . . . 1.88.

III—V. *Essigsaures Kalium, Salpetersaures Natrium, Chlorammonium.*

Essigsaures Kalium, $KC_2H_3O_2$. Molec. Gewicht 98.

Reines kohlensaures Kalium und Essigsäure wurden in äquivalenter Menge in Lösung vorsichtig mit einander gemischt, die Kohlensäure durch Erwärmen vertrieben und das Gemenge bis zu 0.2 Aeq. verdünnt. Aus dieser Flüssigkeit wurden durch weitere Verdünnungen Lösungen von 0.08 bis 0.15 Aeq. herstellt und zu den Versuchen benutzt. Da die Lösungen von 0.12, 0.13 und 0.14 Aeq. die Grenze umschlossen, sind nur die mit diesen durchgeführten Versuche in der Tabelle mitgetheilt worden.

Salpetersaures Natrium, $NaNO_3$. Molec. Gewicht 85.

Für jede Lösung wurden die Krystalle in einer abgewogenen Menge in Wasser gelöst.

Chlorammonium, NH_4 Cl. Molec. Gew. 53,5.

Das Salz enthielt weder K noch Na und zeigte in bestimmter Menge in Wasser gelöst und mit zehntelnormaler Silberlösung titrirt, den richtigen Gehalt von Cl. Es wurde zu jeder Lösung besonders aufgelöst.

Als Indicatorpflanzen dienten zu den Versuchen I, II und III *Curcuma rubricaulis*, zu IV und V *Begonia manicata* und zwar zu IV die Oberhaut der obersten Blattstielschuppen, zu V die rothen Flecke des Blattstieles selbst. Versuchsdauer für I 3 Stunden, für II 4 Stunden und für III—V 2½ Stunden.

						Kalisalpeter.				
		0.12	0.13	0.14	I. C.	0.12	0.13	0.14	I. C.	Verhältniss.
Essigsaures Kalium .	I	n	hp	p	0.13	n	hp	p	0.13	1.0
Salpetersaures Natrium	II	n	hp	p	0.13	n	hp	p	0.13	1.0
Chlorammonium . .	III	n	hp	p	0.13	n	hp	p	0.13	1.0
„ . .	IV	n	n	p	0.135	n	n	p	0.135	1.0
„ . .	V	n	hp	p	0.13	n	hp	p	0.13	1.0

Für diese Salze ist also das Verhältniss zwischen den isotonischen Concentrationen 1.0 und der isotonische Coëfficient somit 3.0.

VI. *Citronensaures Kalium.*

$K_3 C_6 H_5 O_7$. Aequivalentzahl 102. Molecular-Gewicht 306.

Die Lösung wurde durch vorsichtiges Mischen äquivalenter Mengen von reiner krystallisirter Citronensäure und von reinem kohlensauren Kalium und Entfernung der Kohlensäure durch Erwärmung dargestellt. Die Citronensäure hinterliess beim Glühen im Platintiegel pro Gramm 1 Milligr. Asche. Ein Aequivalent der Säure in Milligrammen ausgedrückt (0.07 Gramm) erforderten zur Neutralisation genau 10.0 CC. einer zehntelnormalen Kalilösung; ebenso erforderte ein Aequivalent kohlensauren Kaliums, in Milligrammen ausgedrückt (0.069 Gramm), genau 10.0 einer zehntelnormalen Oxalsäure-Lösung. Zur Herstellung der neutralen Lösung wurden die Säure und das kohlensaure Salz in äquivalenten Mengen

abgewogen und in Lösung vorsichtig gemischt, damit durch Spritzen kein Verlust entstehe.

Als Indicatorpflanze diente zu den Versuchen I—IV *Curcuma rubricaulis*, zu V und VI die Oberhaut der Blattstielschuppen und zu VII die rothen Flecke in der Oberhaut eines Blattstieles von *Begonia manicata*. Versuchsdauer 4—4½ Stunden.

	Citronensaures Kalium.					Kalisalpeter.						
	0.20	0.22	0.24	0.26	I. C.	0.11	0.12	0.13	0.14	0.15	I. C.	Verhältniss × 3
I	—	n	hp	p	0.24	—	n	hp	hp	p	0.135	1.675
II	—	n	n	p	0.25	—	—	n	hp	p	0.14	1.680
III	n	n	p	p	0.23	—	n	hp	p	—	0.13	1.696
IV	n	hp	p	—	0.22	n	n	p	p	—	0.125	1.705
V	n	n	hp	p	0.24	n	n	hp	p	—	0.13	1.625
VI	—	n	n	p	0.25	—	—	n	n	p	0.145	1.740
VII	—	n	n	p	0.25	n	n	hp	p	—	0.13	1.560

Hieraus berechnet sich für das citronensaure Kalium:
das mittlere Verhältniss zwischen den isotonischen Concentrationen . . . . 1,669.
der isotonische Coëfficient . . . . . 5.01.

VII. *Aepfelsaures Magnesium.*

$Mg\ C_4\ H_4\ O_5$. Aequivalentzahl 78. Molecular-Gewicht. 156.

Das Salz wurde durch vorsichtiges Mischen einer Lösung von reiner weisser Aepfelsäure mit einer äquivalenten Menge gereinigten kohlensauren Magnesiums hergestellt; beim vorsichtigen Erwärmen löst es sich zu einer klaren Flüssigkeit auf. Die Aepfelsäure hinterliess beim Verbrennen im Platintiegel pro Gramm zwei Milligramm Asche und enthielt eine Spur von Citronensäure. Das kohlensaure Magnesium war durch wiederholtes Auswaschen mit destillirtem Wasser von anhängenden, in Wasser löslichen Stoffen völlig befreit. Aus der durch vorsichtiges Erwärmen von Kohlensäure befreiten übersättigten Lösung des Aepfelsauren Magnesiums wurden dann durch Verdünnung die erforderlichen Lösungen hergestellt. Sofern auch diese übersättigt waren, hielten sie sich doch einige Tage.

Als Indicatorpflanze diente *Curcuma rubricaulis*.

Die Versuche dauerten 4—5 Stunden.

	Aepfelsaures Magnesium						Kalisalpeter.					Verhältniss × 2
	0.36	0.39	0.42	0.45	0.48	I. C.	0.12	0.13	0.14	0.15	I. C.	
I	—	—	n	hp	p	0.45	—	n	hp	p	0.14	0.622
II	n	hp	p	—	—	0.39	n	p	p	—	0.125	0.641
III	n	n	p	p	—	0.405	n	p	p	—	0.125	0.622

Hieraus berechnet sich:
das mittlere Verhältniss zwischen den isotonischen Concentrationen . . . . 0.628.
der isotonische Coëfficient . . . . . . 1.88.

VIII. *Schwefelsaures Magnesium.*

$MgSO_4$. Aequivalentzahl 60. Molec. Gewicht 120.
Krystalle $MgSO_4 + 7\ H_2O$. Molec. Gewicht 246.
Die Lösungen wurden aus dem reinen Salze durch jedesmaliges Auflösen einer bestimmten Menge in Wasser hergestellt.

Als Indicatorpflanze diente *Curcuma rubricaulis*; die Versuche dauerten 4—5 Stunden; in den beiden ersteren Versuchen wurde nach weiteren fünf Stunden festgestellt, dass eine Verschiebung der isotonischen Concentration nicht stattgefunden hatte.

	Schwefelsaures Magnesium.						Kalisalpeter.						Verhältniss × 2
	0.33	0.36	0.39	0.42	0.45	I. C.	0.11	0.12	0.13	0.14	0.15	I. C.	
I	n	n	hp	p	p	0.39	n	n	p	p	—	0.125	0.641
II	n	hp	p	p	—	0.36	n	hp	p	p	—	0.12	0.667
III	—	—	n	n	p	0.435	—	n	hp	hp	p	0.135	0.621
IV	—	—	n	hp	p	0.42	—	—	n	n	p	0.145	0.690

Hieraus berechnet sich für schwefelsaures Magnesium:
das mittlere Verhältniss zwischen den isotonischen Concentrationen . . . . 0.655.
der isotonische Coëfficient . . . . . . 1.96.

IX.—X. *Chlorcalcium und Chlormagnesium.*

$Ca\,Cl_2$, Aequiv.-Zahl 55.5. Molec. Gewicht 111.
$Mg\,Cl_2$, Aequiv.-Zahl 47.5. Molec. Gewicht 95.

Aus den reinen krystallisirten Salzen wurde mittelst zehntelnormaler Silberlösung eine Lösung von genau 0.5 Aeq. hergestellt, und aus dieser durch weitere Verdünnung die zu den Versuchen erforderlichen Lösungen.

Als Indicatorpflanzen dienten zu den Versuchen I und III *Curcuma rubricaulis*, zu II und IV *Tradescantia discolor*.

Versuchsdauer 4 Stunden.

		Chloride.						Kalisalpeter.						
		0.16	0.17	0.18	0.19	0.20	I. C.	0.11	0.12	0.13	0.14	0.15	I. C.	Verhältniss × 2
$Ca\,Cl_2$	I	—	—	n	p	p	0.185	—	n	n	p	p	0.135	1.459
	II	n	n	p	p	—	0.175	n	n	p	p	p	0.125	1.429
$Mg\,Cl_2$	III	—	n	hp	p	p	0.18	—	n	n	p	p	0.135	1.500
	IV	—	n	hp	p	p	0.18	n	n	p	p	p	0.125	1.389

Hieraus berechnet sich das Verhältniss zwischen den isotonischen Concentrationen, für $Ca\,Cl_2$ zu 1.444 und für $MgCl_2$ zu 1.444. Es sind also die isotonischen Coëfficienten 4.33 resp. 4.33.

XI. *Citronensaures Magnesium.*

$Mg_3\,(C_6\,H_5\,O_7)_2$. Aequivalentzahl 75. Molec.-Gewicht 450.

Von der auch im folgenden Versuche benutzten Citronensäure wurde eine abgewogene Menge in Wasser vorsichtig mit einer aequivalenten Menge gewaschenen und getrockneten kohlensauren Magnesiums, desen Wassergehalt vorher bestimmt war, gesättigt; nach der Auflösung wurde die Kohlensäure durch Erwärmen vertrieben und die Flüssigkeit auf ein bestimmtes Volumen gebracht. Aus dieser wurden durch Verdünnung die zu den Versuchen bestimmten Lösungen gemacht.

Indicatorpflanze *Curcuma rubricaulis*. Versuchsdauer 2½ Stunden.

	Citronensaures Magnesium.					Kalisalpeter.				
	0.495	0.54	0.585	0.63	I. C.	0.11	0.12	0.13	I. C.	Verhältniss × 6
I	—	n	hp	p	0.585	n	hp	p	0.12	1.231
II	n	n	p	p	0.5625	n	hp	p	0.12	1.280
III	n	hp	p	—	0.54	n	hp	p	0.12	1.333
IV	n	n	p	p	0.5625	n	n	p	0.125	1.333

Hieraus berechnet sich das mittlere Verhältniss zwischen den isotonischen Concentrationen zu 1,294, und der isotonische Coëfficient zu 3.88.

XII. *Citronensäure.*

$C_6H_8O_7$. Aequivalentzahl 64. Molec.-Gewicht 192.

Krystalle $C_6H_8O_7 + H_2O$. Aequivalentzahl 70. Molec.gewicht 210.

Die krystallisirte Citronensäure hinterliess beim Glühen im Platintiegel pro Gramm 1 Milligr. Asche. Ein Aequivalent der Säure in Milligrammen ausgedrückt (0,07 Gramm) erforderte zur Neutralisation genau 10 CC einer zehntelnormalen Kalilösung. Jede Lösung wurde durch Auflösen der erforderlichen Gewichtsmenge in Wasser dargestellt.

Als Indicator dienten Blattstiele von *Begonia manicata*, und zwar für Versuch I die Oberhaut der obersten Schuppen, für die übrigen Versuche die rothen Flecke in der Oberhaut der Blattstiele in der Nähe der Schuppen. In den beiden ersten Versuchen wurden die nämlichen Präparate zwei- resp. dreimal durchmustert, es zeigte sich dabei keine Verschiebung in der Grenze der Plasmolyse, woraus zu folgern ist, dass das Resultat nicht von der giftigen Wirkung der Säure beeinflusst wurde.

		Citronensäure.						Kalisalpeter.						
	Dauer in Std.	0.50	0.55	0.60	0.65	0.70	I. C.	0.12	0.13	0.14	0.15	0.16	I. C.	Verhältniss × 3
I	2	n	n	hp	p	—	0.60	n	hp	p	p	—	0.13	0.650
	5	n	n	hp	p	—	0.60	—	—	—	—	—	—	0.650
II	2	n	n	p	p	—	0.575	n	p	p	p	—	0.125	0.652
	5	n	n	p	—	—	0.575	—	—	—	—	—	—	0.652
	9	—	n	p	p	—	0.575	—	—	—	—	—	—	0.652
III	3	n	hp	hp	p	p	0.575	n	hp	hp	p	p	0.135	0.704
IV	2	—	—	n	hp	p	0.65	n	n	n	hp	p	0.15	0.692

Hieraus berechnet sich, wenn man von jedem Versuch nur eine Beobachtung verwendet, als Mittelzahl:

das Verhältniss zwischen den isotonischen Concentrationen . . . . . 0.674.
der isotonische Coëfficient . . . . . 2.02.

XIII. *Weinsäure.*

$C_4H_6O_6$. Aequivalentzahl 75. Molec.-Gewicht 150.

Krystallisirt ohne Krystallwasser.

Die krystallisirte Säure hinterlies beim Verbrennen pro Gramm 1 Milligr. Asche; ein Aequivalent, in Milligrammen ausgedrückt (0.075 Gr.), erforderte zur Neutralisation genau 10 CC einer zehntelnormalen Kalilösung. Jede Lösung wurde durch Auflösen der erforderlichen Gewichtsmenge dargestellt.

Als Indicator diente *Begonia manicata*; für die Versuche I und II die rothen Flecke der Blattstieloberhaut, für III und IV die Oberhaut der obersten ringförmigen Schuppe des Blattstieles.

Die Versuche II und IV zeigen, dass in der 5. bis 9. Stunde des Versuches die Grenze keine Verschiebung erfährt, dass daher der nach zwei Stunden gefundene Werth zu niedrig ist; ich habe diesen deshalb von der Berechnung der Mittelzahl ausgeschlossen.

		Weinsäure.					Kalisalpeter.					
	Dauer in Std.	0.35	0.40	0.45	0.50	I. C.	0.12	0.13	0.14	0.15	I. C.	Verhältniss × 2
I	3	n	p	p	p	0.375	n	hp	hp	p	0.135	0.720
II	2	n	hp	p	p	0.40	—	—	—	—	—	0.625
	5	n	p	—	—	0.375	n	p	p	—	0.125	0.667
	9½	n	p	—	—	0.375	—	—	—	—	—	0.667
III	3	—	n	hp	p	0.45	—	—	hp	p	0.14	0.622
IV	2	n	n	p	p	0.425	—	—	—	—	—	0.612
	5	n	p	—	—	0.375	n	hp	p	—	0.13	0.693
	9½	n	p	—	—	0.375	—	—	—	—	—	0.693

Hieraus berechnet sich für Weinsäure, wenn man von jedem Versuch nur die letzte Beobachtung benutzt:

das Verhältniss zwischen den isotonischen Concentrationen . . . . . 0.673.
der isotonische Coëfficient . . . . . 2.02.

XIV. *Aepfelsäure.*

$C_4H_6O_5$. Aequivalentzahl 67. Molec.-Gewicht 134.

Die krystallisirte Aepfelsäure war nahezu farblos, hinterliess beim Verbrennen im Platintiegel pro Gramm 2 Milligramm Asche und enthielt eine Spur Citronensäure. Es wurde eine Lösung von 1 Aeq. hergestellt und daraus durch Verdünnung die zu den Versuchen erforderlichen Lösungen bereitet.

Als Indicator dienten die rothen Zellen der Blattstiele von *Begonia manicata*, und zwar in den Versuchen I—III die rothen Flecke in der Oberhaut des Blattstiels, welche sich um die Basen der Schuppen herum befinden, in den Versuchen IV—VI aber die Oberhaut der Schuppen selbst. Nur die grösste den Stiel ringsherum umfassende, der Spreite am nächsten stehende Schuppe wurde benutzt und für jeden Versuch sämmtliche Präparate aus derselben Schuppe genommen.

Jedes in Aepfelsäure getauchte Präparat wurde zweimal untersucht, einmal nach 4—4½, ein anderes Mal 9—10 Stunden, in dieser Zeit ist die Grenze, der schädlichen Wirkung der Säure zu Folge, stets um ein Geringes herabgedrückt worden. Es wurde daher aus beiden Beobachtungen das Mittel als der Wahrheit am nächsten entsprechend angenommen. In den Salpeterlösungen findet eine solche Verschiebung nicht statt; hier ist also nur je eine Beobachtung angeführt worden.

		Aepfelsäure.							Kalisalpeter.							
	Dauer in Stunden	0.30	0.35	0.40	0.45	0.50	0.55	I. C.	0.12	0.13	0.14	0.15	0.16	I. C.	Verhältn. × 2	Mittleres Verhältn. × 2
I	4	n	n	hp	p	p	—	0.40	n	n	p	p	—	0.135	0.675	0.723
	10	n	hp	p	—	—	—	0.35	—	—	—	—	—	—	0.771	
II	4½	—	—	n	n	p	p	0.475	n	n	n	hp	p	0.15	0.631	0.649
	9½	—	n	n	hp	p	—	0.45	—	—	—	—	—	—	0.667	
III	4½	n	n	hp	p	p	—	0.40	n	hp	p	p	—	0.13	0.650	0.672
	9	—	n	p	—	—	—	0.375	—	—	—	—	—	—	0.693	
IV	4	n	n	n	p	p	—	0.425	n	hp	p	p	—	0.13	0.611	0.677
	10	n	hp	p	—	—	—	0.35	—	—	—	—	—	—	0.743	
V	4½	—	—	n	n	hp	p	0.50	—	n	n	hp	p	0.15	0.600	0.633
	9½	—	n	n	hp	p	—	0.45	—	—	—	—	—	—	0.667	
VI	4½	n	n	n	p	p	—	0.425	n	p	p	p	—	0.125	0.588	0.606
	9	n	n	hp	—	—	—	0.40	—	—	—	—	—	—	0.625	

Hieraus berechnet sich für Aepfelsäure:

das Verhältniss zwischen den isotonischen Concentrationen . . . . . 0.660.

der isotonische Coëfficient . . . . . 1.98.

XV. *Oxalsäure.*

$H_2 C_2 O_4$. Aequivalentzahl 45. Molec. Gewicht 90.

Krystalle $C_2 H_2 O_4 + 2 H_2O$. Aequivalentzahl 63. Molec.-Gewicht 126.

Die Oxalsäure war frei von Kali, wie sie als Grundlage titrimetrischer Bestimmungen verwendet wird. Mit den rothen Zellen der obersten Schuppen der Blattstiele von *Begonia manicata* wurden einige Bestimmungen des isotonischen Coëfficienten in der üblichen Weise vorgenommen, der Versuch aber wegen der schädlichen Wirkung der Säure bald unterbrochen. Die erhaltenen Zahlen schwankten, als ich jugendliche, sehr kräftige, nicht völlig ausgewachsene Blätter im Sommer benutzte, zwischen 2.09 und 2.33, und ergaben im Mittel 2.25. Da diese Zahlen wegen der erwähnten giftigen Wirkung etwas zu gross ausfallen mussten, so kann als Resultat dieses Versuches wenigstens so viel als feststehend betrachtet werden, dass der isotonische Coëfficient für Oxalsäure nahezu derselbe ist als der für die drei anderen organischen Säuren. Da den Versuchen aber aus jenem Grunde die erforderliche Genauigkeit abgeht, führe ich sie nicht weiter an.

XVI. *Doppeltsaures citronensaures Kalium.*

$KH_2 C_6 H_5 O_7$. Aequivalentzahl $1/3 \times 230$. Molec.-Gewicht 230.

Reine Citronensäure wurde mit $1/3$ Aequivalent kohlensaurem Kali vorsichtig gemischt, die Kohlensäure durch Erwärmen vertrieben, die Mischung auf einen Gehalt von 1 Aeq. der Säure verdünnt, und aus dieser Lösung durch weitere Verdünnung die für die Versuche zu verwendenden Flüssigkeiten bereitet. In der ersten Hälfte der Blattstiele, in II die oberste Schuppe des Blattstieles von *Be-* Lösungen an Säure an, $1/3$ davon ist durch Kali gesättigt.

Indicatoren waren in Versuch I die rothen Flecke der Oberhaut der Blattstiele, in II die oberste schuppe des Blattstieles von *Begonia manicata.*

Versuchsdauer 3½ Stunden; nach weiteren 5½ Stunden war keine Aenderung in dem Grade der Plasmolyse eingetreten.

	Doppeltsaures citronensaures Kalium.				Kalisalpeter.					
	0.42	0.45	0.48	I. C.	0.13	0.14	0.15	0.16	I. C.	Verhältniss × 3
I	n	p	p	0.435	n	n	hp	p	0.15	1.035
II	n	p	p	0.435	n	n	p	p	0.145	1.00

Hieraus berechnet sich:

das mittlere Verhältniss zwischen den isotonischen Concentrationen . . . 1.017.
der isotonische Coëfficient . . . . . . 3.05.

XVII. *Einfachsaures citronensaures Kalium.*

$K_2 HC_6 H_5 O_7$. Aequivalentzah $^1/_3 \times 268$. Molec.-Gewicht 268. Reine Citronensäure wurde mit $^2/_3$ Aequivalent kohlensaurem Kali vorsichtig gemischt, die Kohlensäure durch Erwärmen vertrieben und die Mischung auf einen Gehalt von 1 Aeq. der Säure verdünnt. Durch weitere Verdünnung wurden hieraus die erforderlichen Lösungen gemacht. In der ersten Hälfte der Tabelle giebt also die zweite Horizontalzeile den Gehalt an Säure in Aeq. an; $^2/_3$ davon ist jedesmal an Kali gebunden.

Als Indicatorpflanze dienten die rothen Oberhautzellen der Blattstiele von *Begonia manicata*, und zwar für Versuch I und II die rothen Flecke and der Basis der Schuppe, für III und IV die obere ringförmige Schuppe in der Nähe der Lamina. Zu Versuch V wurde aber *Curcuma rubricaulis* verwandt; die Erfahrung lehrte, dass diese trotz der sauren Reaction des Salzes zuverlässige Resultate gab.

Versuchsdauer 3½—4½ Stunden; in I, III und IV wurde nach weiteren 4½ Stunden constatirt, dass die Grenze sich nicht verschoben hatte.

	Einfachsaures citronensaures Kalium.						Kalisalpeter.						
	0.27	0.29	0.31	0.33	0.35	I. C.	0.12	0.13	0.14	0.15	0.16	I. C.	Verhältn. × 3
I	n	n	n	p	p	0.32	—	n	n	hp	p	0.15	1.406
II	n	n	hp	p	p	0.31	—	n	n	p	—	0.145	1.403
III	—	n	n	hp	p	0.33	—	n	n	p	p	0.145	1.318
IV	n	p	p	—	—	0.28	n	p	p	—	—	0.125	1.339
V	n	p	—	—	—	0.28	n	p	—	—	—	0.125	1.339

Hieraus berechnet sich:

das mittlere Verhältniss zwischen den isotonischen Concentrationen . . . 1.361.
der isotonische Coëfficient . . . . . 4.08.

§ 3. *Die plasmolytische Transport-Methode.*

Ausser nach der vergleichenden Methode kann man die Plasmolyse noch in ganz anderer Weise zur Ermittelung der isotonischen Coëfficienten verwenden. Man bringt dazu geeignete Präparate in eine willkürliche, z. B. schwach plasmolysirende Lösung des zu studirenden Salzes, und nachdem die Protoplaste hier ihre Contraction beendet haben, transportirt man die einzelnen Objecte in Salpeterlösungen verschiedener Concentration. Letztere wählt man so, dass einige stärker und andere schwächer Wasser anziehen als die benutzte Lösung des anderen Körpers, während Eine Salpeterlösung mit dieser isotonisch ist. Die Protoplaste der in die stärkeren Lösungen gebrachten Zellen werden sich weiter contrahiren, die in die schwächeren Lösungen gekommenen werden sich ausdehnen und nur in der isotonischen Salpeterlösung findet keine Aenderung ihrer Grösse statt. Umgekehrt wird man aus dem Verhalten der Protoplaste nach dem Transport bestimmen können, welche Salpeterlösung mit der Lösung des anderen Salzes isotonisch war.

Diese Methode habe ich zu einigen, im nächstfolgenden Paragraphen mitzutheilenden Versuchen über den Einfluss der Concentration auf den Werth der isotonischen Coëfficienten benutzt. Ich werde sie deshalb jetzt ausführlich beschreiben.

Der vergleichenden plasmolytischen Methode gegenüber hat diese Transportmethode gewisse Vortheile, aber auch schwerwiegende Nachtheile. Der auffallendste Unterschied liegt darin, dass hier jede einzelne Zelle nur mit sich selbst verglichen wird und dass deshalb der Einfluss individueller Unterschiede auf das Resultat völlig ausgeschlossen ist. Speciell für das Studium des Einflusses der Concentration hat sie aber noch weitere Vorzüge. Denn bei diesem Studium kommt es darauf an, Lösungen von z. B. 0.1—0.3 Aeq. Kalisalpeter mit isotonischen Lösungen anderer Salze zu vergleichen. Die plasmolytische Grenzlösung, wie wir sie bei der vergleichenden Methode bestimmten, schwankt bei unseren Indicatorgeweben nur zwischen 0.10—0.16 Aeq. KNO_3, und genügt jener Be-

dingung also nicht 1). Wenn aber jede einzelne Zelle nur mit sich selbst verglichen wird, so ist Gleichheit der verschiedenen Zellen unter sich keine Bedingung mehr, und wir dürfen also jetzt als Indicator ein Gewebe mit sehr ungleichen Zellen wählen und aus diesem Zellen resp. Präparate aussuchen, deren einige bereits durch etwa 0.10 Aeq. KNO_3, andere erst durch 0.2 und noch andere erst durch 0.3 Aeq. KNO_3 plasmolysirt werden. Diese drei Gruppen eignen sich dann zu den Versuchen bei verschiedener Concentration.

Der wesentlichste Nachtheil der Transportmethode liegt in dem Umstand, dass die Protoplaste bei stundenlangem Aufenthalt in den Salzlösungen immer weniger empfindlich werden, und zumal von ihrem Vermögen, sich in verdünnterer Lösung wieder auszudehnen, immer mehr einbüssen. Aus diesem Grunde gestehe ich ihr zur Ermittelung der isotonischen Coëfficienten in gewöhnlichen Fällen nur eine untergeordnete Bedeutung zu.

Um die Grösse der Protoplaste vor und nach dem Transporte in die zweite Lösung vergleichen zu können, mache ich von jedem Präparat mit der Camera lucida eine Zeichnung, in der zumal die Protoplaste genau eingetragen sind. Selbstverständlich zeichne ich sie erst, nachdem sie hinreichend lange Zeit in der ersten Lösung verweilt haben, um hier constante Grösse zu erreichen. Nach dem Aufenthalt in der zweiten Lösung wird dann die eventuell geänderte Grösse der Protoplaste wiederum mittelst der Camera lucida mit jener Zeichnung verglichen. Als Material diente dabei stets die violette Oberhaut der Blattunterseite von *Tradescantia discolor*, mit Ausnahme der auf oder neben dem Mittelnerven liegenden Partien.

Damit wäre das Princip der Methode angegeben und wir können jetzt zu der ausführlichen Beschreibung der Versuche und der kritischen Betrachtung der möglichen Fehlerquellen übergehen.

Die Ausführung der Versuche nach der Transportmethode geschah in folgender Weise. Mikroskopische Präparate aus der genannten Blattoberhaut wurden in grösserer Anzahl in kleine, mit einem Stopfen lose verschlossene Glascylinder von etwa 20 CC Inhalt gebracht, welche etwa zur Hälfte mit der zu verwendenden Lösung gefüllt waren. Die Lösung wurde nach ¼ bis ½ Stunde erneuert. Nach 2—4 Stunden hatte die Contraction der Protoplaste,

---

1) Bei *Tradescantia discolor* würde allerdings die Basis des Mittelnerven die Vergleichung stärker concentrirter Lösungen gestatten, jedoch scheint die Empfindlichkeit und die Gleichmässigkeit jener Zellen zu wünschen übrig zu lassen.

wie Vorversuche lehrten, in allen Zellen ihr Ende erreicht und es wurden jetzt die Präparate durchmustert und dasjenige ausgewählt, welches die gleichmässigste, zugleich aber die schwächste noch scharf wahrnehmbare Plasmolyse zeigte. Von der geeignetsten Zellengruppe (meist 30—50 Zellen enthaltend) wurde jetzt mit der Camera lucida eine genaue Zeichnung des Zellennetzes und der Form und Grösse der einzelnen Protoplaste entworfen, während das Präparat unter Deckglas in derselben Salzlösung lag wie vorher. Nun wurde es in die Lösung eines anderen Salzes gebracht, von der in einem ähnlichen Cylinderglase wiederum etwa 10 CC angewandt wurden. Unter diesen Umständen konnte in dem Präparate befindliche Lösung des ersteren Salzes, welche in dem zweiten selbstverständlich hinausdiffundirte, völlig vernachlässigt werden. Nach weiteren 2—4 Stunden wurde das Präparat herausgenommen, und unter Deckglas in derselben Lösung liegend, Zelle für Zelle mit der Zeichnung verglichen. In jede Zelle wurde eingeschrieben, ob der Protoplast sichtlich grösser oder kleiner geworden war, oder sich nicht merklich geändert hatte. In Fällen des Zweifels wurde nichts eingeschrieben; solche Zellen erhielten daher keinen Antheil an das Resultat. Die Anzahl der zu jeder dieser drei Gruppen gehörigen Zellen findet sich in den folgenden Tabellen verzeichnet.

Die beim Zeichnen angewandte Vergrösserung war $\frac{110}{1}$; die Grösse der Zellen selbst änderte sich während des Aufenthaltes in der zweiten Lösung nie.

Folgende Punkte verdienen noch eine eingehendere Besprechung.

Die Wahl der Concentrationen. Es ist selbstverständlich, dass eines der beiden Salze, in welche ein Präparat gebracht wird, jedesmal der Kalisalpeter ist, weil wir ja die Beziehung des zu untersuchenden Salzes zu diesem prüfen wollen. Ob es in diesen zuerst oder zuletzt kommt, ist ziemlich gleichgültig; da die Erfahrung über seine Unschädlichkeit für das lebendige Protoplasma aber eine viel grössere und sicherere ist, als für manche der anderen Salze, habe ich es in den meisten Versuchen als erste Lösung angewandt.

Durch Vorversuche, oder aus den Seite 138 mitgetheilten Zahlen, liessen sich ungefähr die zur Plasmolyse erforderlichen Concentrationen der beiden Salze bestimmen. Es wurde nun das eine Salz in jeder Versuchsreihe in einer, das andere in zwei bis fünf verschiedenen Conccentrationen angewandt und die letzteren so gewählt, dass ihr mittlerer Werth voraussichtlich mit der einzigen Concentra-

tion des anderen Salzes isotonisch war. Ob der Kalisalpeter oder das zu untersuchende Salz in wechselnder Concentraton angewandt wird, ist dabei gleichgültig; aus praktischen Gründen habe ich aber gewöhnlich nur eine Concentration des zu erforschenden Salzes und mehrere des Kalisalpeters angewandt.

Die Differenz zwischen den auf einander folgenden Concentrationen der zu demselben Versuch angewandten Salpeterlösungen war 0.01 bis 0.02 Aeq., also ebenso gross oder fast ebenso gross wie bei den Versuchen nach der vergleichenden Methode. So äusserst geringe Differenzen lassen aber noch mit voller Sicherheit wahrnehmbare Unterschiede in der Grösse der Protoplaste erkennen, wenigstens wenn man dazu die geeigneten Zellen auswählt. Wir wollen deshalb nun diesen Punkt etwas genauer betrachten.

Die Wahl des Präparates. Es ist von hervorragender Wichtigkeit, nur solche Zellen für die Beobachtung zu wählen, in denen die Abhebung des Protoplasma von der Zellhaut nicht nur sich scharf wahrnehmen lässt, sondern auch eine möglichst schwache ist. Denn nur hier können geringe Unterschiede in der Concentration deutlich sichtbare Grössenänderungen des Protoplasten hervorrufen. Ist der Grad der Plasmolyse ein solcher, dass der Protoplast als Kugel frei in der Mitte der Zelle liegt, so sind die Umstände für die Wahrnehmbarkeit einer geringen Aenderung der Grösse offenbar möglichst ungünstige. Ist die Plasmolyse so gering, dass das Protoplasma nur an einer Stelle von der Wand abgehoben ist, sonst dieser aber noch dicht anliegt, so wird sich die Grössenänderung des ganzen Protoplasten durch die Vor- oder Zurückschiebung dieser einzelnen Stelle verrathen, und also viel schärfer wahrnehmbar sein.

In dieser Hinsicht bietet nun die Oberhaut der Unterseite der Blätter von *Tradescantia discolor* den Vortheil, dass die zur Plasmolyse gerade erforderliche Concentration für verschiedenen Stellen desselben Blattes entnommene Präparate nicht genau dieselbe ist. Ich bringe deshalb für jeden Versuch von möglichst verschiedenen Theilen des Blattes Präparate in die Lösung, und finde darunter dann leicht welche mit dem erwünschten Grade der Plasmolyse. Die Zellen auf und in der Nähe des Mittelnerven, welche für die vergleichende Methode wegen ihrer grossen Gleichmässigkeit die einzig brauchbaren sind, werden aus demselben Grunde hier immer so viel wie möglich ausgeschlossen.

Die Zellen der *Tradescantia discolor* bieten den weiteren Vortheil, dass die Abhebung des Protoplasma von der Zellhaut gewöhnlich

seitlich stattfindet und also mit voller Schärfe wahrnehmbar ist. Bisweilen findet man aber, zumal in den Lösungen weniger diffusibler Stoffe, dass die Abhebung auf der oberen oder unteren Wand der Oberhautszellen anfängt, und also keine Stelle des Zelllumens unter dem Mikroskope farblos erscheint. Solche Zellen dürfen nur in besonderen Fällen für die Beobachtung gewählt werden. Zellen, in denen keine Plasmolyse in der ersten Lösung eingetreten ist, sind gleichfalls auszuschliessen, mit Ausnahme des Falles, wo sie in der zweiten Lösung, wenn diese grössere Anziehungskraft für Wasser besitzt, in den plasmolytischen Zustand übergehen. Sie bilden dann gerade den höchsten Grad von Sicherheit, welche bei dieser Methode überhaupt zu erreichen ist. Dasselbe gilt für solche Zellen, welche beim Transport aus einer relativ stärkeren Lösung in eine schwächere ihre Plasmolyse vollständig ausgleichen. Zur Auswahl solcher Zellen für die Zeichnungen gehört aber eine ziemlich grosse Uebung.

Die Beurtheilung der Präparate, nach dem Aufenthalt in der zweiten Lösung. Die Vergleichung der Zellen am Ende des Versuches mit den vorher von ihnen gemachten Zeichnungen ist in vielen Fällen eine sehr leichte. Je schwächer die Plasmolyse, je empfindlicher die Protoplaste, und je grösser der Unterschied in der wasseranziehenden Kraft der beiden zu vergleichenden Lösungen war, um so klarer tritt das Resultat hervor. Bei geringen Concentrationsunterschieden und wenig empfindlichen Protoplasten treten aber gewisse Fehlerquellen ins Gewicht, welche wir jetzt besprechen wollen.

Die erstere ist die Abrundung und Lagenänderung der Protoplaste während des Aufenthaltes in der zweiten Lösung. Die Protoplaste der violetten Blattoberhaut der *Tradescantia discolor* kleben bei anfangender Plasmolyse längere Zeit an die Zellhaut, auf die Dauer heben sie sich aber immer mehr von dieser ab. Dadurch nähern sie sich immer mehr der Kugelform und diese Formänderung kann sehr leicht dazu führen, dass es unmöglich ist, zu unterscheiden, ob sie ihre Grösse geändert haben oder nicht. Solche Zellen sind also von der Berechnung des Resultates auszuschliessen.

Eine weitere Fehlerquelle liegt in dem Umstande, dass die Protoplaste im plasmolytischen Zustande allmälig weniger dehnbar werden, schon lange, bevor sie eine sichtbare Spur von eintretendem Tode zeigen. Sie behalten dabei die Fähigkeit, bei zunehmender Concentration sich zusammenzuziehen, aber reagiren auf eine Abnahme der Concentration nicht mehr durch eine entsprechende

Grössenzunahme, und wenn der Concentrationsunterschied ein grösserer ist, platzen sie und sterben und entziehen sich dadurch der Beobachtung. Die Versuche, in denen die Concentration der zweiten Lösung also eine höhere ist als die der ersteren, geben dadurch weit schärfere Resultate als die, in denen das Umgekehrte der Fall ist und würden aus diesem Grunde vorzuziehen sein, wenn nicht andere Umstände gerade den in zweiter Linie genannten Versuchen eine grössere Beweiskraft beilegten. Es sind dies folgende: Wenn die Dauer des Aufenthaltes in der ersten Lösung nicht eine so lange war, dass in allen Zellen das in jener Lösung mögliche Maximum der Concentration der Protoplaste erreicht werden konnte, so wird auch dann, wenn die zweite Lösung mit der ersteren isotonisch ist, eine weitere Zunahme der Plasmolyse eintreten können. Letztere würde also unter solchen Umständen nichts beweisen, während eine Ausdehnung der Protoplaste auch unter diesen Umständen völlig beweisend ist.

Ist ferner die zweite Lösung eine dem Leben der Zellen nicht völlig unschädliche, z. B. eine solche, welche den Zutritt des freien Sauerstoffes bedeutend erschwert, so werden die am meisten empfindlichen Protoplaste anfangen zu sterben, und ist die betreffende Lösung eine schwer diffundirende, so werden sie demzufolge allmälig kleiner werden. Es ist häufig schwer, an einer solchen Zelle den anfangenden Tod zu erkennen, und bei den Versuchen mit Zuckerlösungen habe ich diese Fehlerquelle nicht immer vollständig vermeiden können.

Es ist selbstverständlich, dass nur völlig neutrale Lösungen und solche, welche keine Spur kohlensaurer Salze enthalten, Verwendung finden dürfen; ich habe meine Salze mit besonderer Rücksicht auf diesen Punkt umkrystallisirt und mich dann dadurch von ihrer Reinheit versichert, dass ich prüfte, ob die violetten Zellen von *Tradescantia discolor* bei zweitägigem Aufenthalt in den Salzlösungen eine Spur von Blaufärbung ihres Inhaltes zeigten. Nur wo solches nicht der Fall war, konnte das Salz als rein betrachtet werden.

Die Dauer des Aufenthaltes in der ersteren Lösung muss also stets eine so lange sein, dass die Contraction der sich ablösenden Protoplaste ihr in dieser Lösung mögliches Maximum erreicht, und auch nicht länger, um die Protoplaste so wenig wie möglich von ihrer Empfindlichkeit einbüssen zu lassen. Zwei bis vier Stunden zeigten sich hierzu in der Regel als das Zweckmässigste. In der zweiten Lösung liess ich die Präparate nur so lange, bis eine si-

chere Entscheidung eintrat, was häufig bereits nach einer Stunde der Fall war.

Die Empfindlichkeit der beschriebenen Methode lässt sich in sehr einfacher Weise prüfen, wenn man als zweite Lösung dasselbe Salz wählt wie für die erste. Es wird sich dann zeigen, welche Aenderungen in der Grösse der Protoplaste einer genau bekannten Aenderung in der Concentration folgen. Ich führe zwei solche Versuche an, welche ich mit Kalisalpeter angestellt habe. In dem ersten Versuch wurden die Präparate aus der violetten Blattoberhaut von *Tradescantia discolor* zunächst in fünf Lösungen verschiedener Concentration gelegt, nach einem Aufenthalte von 4 bis 6 Stunden gezeichnet und sämmtlich in eine Lösung von 0.20 Aeq. KNO_3 übergebracht. Jedes Präparat kam dabei in ein besonderes Röhrchen mit etwa 10 CC. der Lösung. Nach weiteren 4—6 Stunden wurden die Präparate mit den Zeichnungen verglichen, und das Resultat in folgende Tabelle zusammengestellt:

Aus KNO_3	Gebracht in KNO_3	Verhältniss	Anzahl der Protoplaste, deren Grosse:		
			zugenommen.	gleichgeblieben.	abgenommen.
0.16 Aeq.	0.20 Aeq.	0.8	0	7	21
0.18 -	0.20 -	0.9	0	38	11
0.20 -	0.20 -	1.0	2	40	1
0.22 -	0.20 -	1.1	21	30	3
0.24 -	0.20 -	1.2	28	13	2

Die drei letzten Spalten geben an, in wie vielen Zellen die Protoplaste ihre Grösse wirklich verändert oder deutlich nicht verändert hatten; zweifelhafte Fälle sind so viel wie möglich ausgeschlossen.

Bei der Betrachtung der Tabelle zeigt sich:

I. Dass nur bei unveränderter Concentration nahezu sämmtliche Protoplaste gleichgeblieben sind, während bei abnehmender Concentration eine Ausdehnung, bei zunehmender eine Zusammenziehung beobachtet wurde. Und zwar in um so zahlreicheren Zellen, je grösser die betreffende Aenderung der Concentration war.

2. Dass in allen fünf Versuchen eine merkliche Anzahl von Protoplasten keine Veränderung wahrnehmen liess, und zwar um

so zahlreichere, je geringer die Concentrationsdifferenz war. Es sind dies offenbar die weniger empfindlichen Zellen und solche, in denen die Form der Ablösung von der Zellhaut der Beobachtung geringer Grössendifferenzen ungünstig war.

Hieraus ergiebt sich also die Regel, dass man bei Versuchen nach dieser Methode vorwiegend darauf zu achten hat, ob eine erhebliche Anzahl von Zellen Zu- oder Abnahme der Grösse ihrer Protoplaste erkennen lässt, während die Zahl derjenigen Zellen, in denen eine solche entscheidende Beobachtung nicht gemacht werden kann, nur von untergeordneter Bedeutung ist.

Je näher man einander die Concentrationen der angewandten Lösungen rückt, um so weniger scharf wird selbstverständlich die Grenze und dieses gilt aus früher namhaft gemachten Gründen, hauptsächlich auf der Seite, wo bei abnehmender Concentration eine Ausdehnung der Protoplaste erwartet wird. Folgender Versuch zeigt dieses:

Aus KNO_3	Gebracht in KNO_3	Verhältniss	Anzahl der Protoplaste, deren Grösse:		
			zugenommen.	gleichgeblieben.	abgenommen.
0.16 Aeq.	0.18 Aeq.	1.12	0	21	27
0.16 -	0.17 -	1.06	0	44	11
0.16 -	0.16 -	1.0	0	44	1
0.16 -	0.15 -	0.94	7	34	6
0.16 -	0.14 -	0.87	37	12	0

Die Anordnung des Versuches war dieselbe wie in dem ersteren, ebenso das Resultat, mit Ausnahme des vierten Präparates. Hier hatten die Zellen auf einen Transport aus 0.16 Aeq. KNO_3 in 0.15 Aeq. desselben Salzes nicht in entscheidender Weise reagirt. Dagegen war auf den Transport in eine 0.01 Aeq. stärkere Lösung eine sehr deutliche Contraction eingetreten. Dieser Unterschied in der Schärfe der beiden Grenzen ist offenbar eine Folge davon, dass die Protoplaste einer nachträglichen Ausdehnung weit grösseren Widerstand entgegensetzen als einer fortschreitenden Contraction. Bei dem Studium des Einflusses der Concentration auf den Werth der isotonischen Coëfficienten wird diese Erfahrung uns bei der Verwerthung der Versuche von grossem Nutzen sein.

Als Beispiel zu dieser Methode führe ich einen Versuch mit

Chlorkalium an. Das Salz war durch Umkrystallisiren gereinigt und zu einer Lösung von 0.20 Aeq. (= 0.20 Molec.) in destillirtes Wasser aufgelöst. Die Präparate kamen zuerst in verschiedene Lösungen des Kalisalpeters, dann aber, nachdem die erforderliche Anzahl von Zellen gezeichnet war, je in ein etwa 10 CC dieser Chlorkaliumlösung enthaltendes Röhrchen. Nach weiteren zwei Stunden wurden sie mit den Zeichnungen verglichen und es ergab sich folgendes Resultat:

Chlorkalium.

Aus KNO_3	Gebracht in KCl.	Verhältniss	Anzahl der Protoplaste, deren Grösse:		
			zugenommen.	unverändert.	abgenommen.
0.16 Aeq.	0.20 Aeq.	0.8	0	10	20
0.18 -	0.20 -	0.9	0	16	20
0.20 -	0.20 -	1.0	0	28	0
0.22 -	0.20 -	1.1	28	35	0
0.24 -	0.20 -	1.2	19	14	0

Die Lösungen von 0.20 Aeq. Chlorkalium und 0.20 Aeq. Kalisalpeter sind somit isotonisch; und da das Verhältniss zwischen beiden = 1 ist, so ist der isotonische Coëfficient des Chlorkaliums = 3.0.

Weitere Versuche habe ich u. A. mit neutralem oxalsauren und weinsaurem Kali angestellt; sie führten für beide Salze zu einer Bestätigung des Satzes, dass für die isotonischen Coëfficienten nach der plasmolytischen Methode dieselben Werthe gefunden werden, wie nach der Methode der Gewebespannung, brauchen hier aber nicht weiter angeführt zu werden.

§ 4. *Einige Versuche zur Kritik der Methode.*

Bei der Berechnung der isotonischen Coëfficienten haben wir stets stillschweigend angenommen, dass die Affinität gelöster Körper zu Wasser in verdünnten Lösungen innerhalb der Grenzen unserer Versuche der Concentration proportinal sei, dass also unsere Werthe, welche bei zwischen 0.10 und 0.16 Aeq. Kalisalpeter wechselnden Concentrationen bestimmt sind, ohne Weiteres mit einander verglichen werden dürfen.

Bei der Anwendung unserer Coëfficienten zur Analyse der Tur-

gorkraft werden wir ferner annehmen, dass sie bei sämmtlichen, in den Zellen vorkommenden Concentrationen ihre Gültigkeit behalten, also innerhalb von etwas weiteren Grenzen, und zumal bei verdünnteren Lösungen dieselben bleiben. Und da ferner die Zellsäfte stets Gemenge verschiedenartiger Verbindungen sind, werden wir anzunehmen haben, dass die einzelnen Stoffe auch in gemischten Lösungen ihre isotonischen Coëfficienten behalten.

Obgleich diese beiden Sätze an und für sich wohl kaum Zweifeln unterliegen werden, habe ich doch eine Reihe von Versuchen durchgeführt, um ihnen eine experimentelle Grundlage zu sichern.

Versuche über den Einfluss der Concentration auf den Werth der isotonischen Coëfficienten. In sehr verdünnten Lösungen, wie sie zu unseren Versuchen dienten, darf man annehmen 1) dass der Raum, den Molecüle des gelösten Körpers einnehmen, gegenüber dem des Lösungsmittels verschwindend klein sei, und dass die einzelnen Substanzmolecüle somit hinreichend weit von einander entfernt sind, um in ihrer Anziehung zum Lösungsmittel nicht von einander beeinflusst zu werden. So lange diese Bedingung erfüllt ist, ist die Anziehung des gelösten Körpers einfach gleich der Summe der Anziehungen seiner Molecüle, und also der Zahl dieser Molecüle in der Einheit des Volumens, d. h. der Concentration, proportional. In concentrirteren Lösungen rücken die Substanzmolecüle einander näher, und üben auf einander Wirkungen aus, welche jene Proportionalität aufheben können, und ich habe mich überzeugt, dass hoch concentrirte Lösungen verschiedener Salze, welche nach unseren Coëfficienten als isotonisch berechnet waren, in sehr verschiedenem Grade plasmolysirend wirkten.

Die folgenden Versuche sind nicht bestimmt, die Grenze zu ermitteln, bis zu der unsere Coëfficienten noch eine hinreichende Genauigkeit besitzen, sondern nur zu zeigen, dass innerhalb der Grenzen unserer Versuche und ihrer Anwendung auf die Analyse der Turgorkraft, die Concentration keinen Einfluss auf ihre Resultate ausübt. Die Versuche wurden, theils mit schwefelsaurem Kalium, theils mit Rohrzucker, nach der Transportmethode ausgeführt. (Vergl. § 3.)

I. *Schwefelsaures Kalium.*

$K_2 SO_4$. Aequivalentzahl 87. Molec.-Gewicht 174.

Die Lösungen wurden jede durch Auflösen einer abgewogenen

1) Vergleiche L. C. Schwab: Bijdrage tot de kennis der estervorming. Diss. Amsterdam 1883, S. 5—13.

Menge reiner Krystalle zu einem bestimmten Volum in Wasser dargestellt.

Die Versuche wurden genau in der im vorigen Paragraphen beschriebenen Weise ausgeführt. Zur Plasmolyse dienten die violetten Zellen der unterseitigen Oberhaut eines Blattes von *Tradescantia discolor.* Auf demselben Blatte findet man Stellen, wo die Grenze der Plasmolyse bei 0.1 Aeq. Kalisalpeter und andere, wo sie bei 0.2 Aeq. liegt; an der Basis steigt diese Grenze sogar auf 0.25 Aeq. KNO_3. In jede einzelne Lösung wurden nun sehr verschiedenen Stellen entnommene Präparate gebracht und nach etwa zwei Stunden daraus diejenigen ausgesucht, deren Zellen den schwächsten Grad der Plasmolyse zeigten.

In den Spalten der Verhältnisse habe ich diese sogleich auf Molecüle berechnet.

I. 0.2 *Aeq. Schwefelsaures Kalium.*

Aus KNO_3	Gebracht in K_2SO_4	Verhältniss × 2	Anzahl der Protoplaste, deren Grösse:		
			zugenommen.	nicht verändert.	abgenommen.
0.11 Aeq.	0.20 Aeq.	1.1	1	6	16
0.12 -	0.20 -	1.2	1	6	25
0.13 -	0.20 -	1.3	1	37	2
0.14 -	0.20 -	1.4	21	27	0
0.15 -	0.20 -	1.5	26	25	1

II. 0.3 *Aeq. Schwefelsaures Kalium.*

Aus KNO_3	Gebracht in K_2SO_4	Verhältniss × 2	Anzahl der Protoplaste, deren Grösse:		
			zugenommen.	nicht verändert.	abgenommen.
0.165 Aeq.	0.30 Aeq.	1.1	0	6	39
0.18 -	0.30 -	1.2	0	21	25
0.195 -	0.30 -	1.3	5	56	4
0.21 -	0.30 -	1.4	3	52	4
0.225 -	0.30 -	1.5	10	35	0

Beachtet man, bei der Betrachtung der zweiten Tabelle, die auf S. 179 gemachte Bemerkung, so wird man von den beiden Ver-

suchen (aus 0.195 und aus 0.21 Aeq. KNO_3), in denen eine merkliche Veränderung in der Grösse der Protoplaste nicht zu erkennen war, den ersteren als denjenigen ansehen müssen, in dem die beiden Concentrationen am nächsten isotonisch waren.

Beide Versuche geben also übereinstimmend für das Verhältniss der isotonischen Concentrationen den Werth 1.3 und somit für den isotonischen Coëfficienten $1.3 \times 3 = 3.9$.

Mit schwefelsaurem Kalium habe ich noch zwei weitere Versuche gemacht, welche zeigen, dass es gleichgültig ist, ob man die Präparate zuerst oder zuletzt in Kalisalpeter bringt, und ob man von diesem oder von dem anderen Salze nur Eine Concentration verwendet (vergl. 174). Beide bestätigen die Bestimmung des isotonischen Coëfficienten auf $1.3 \times 3 = 3.9$. Ich fasse beide in eine Tabelle zusammen.

III. *Schwefelsaures Kalium.*

Aus	Gebracht in	Verhältniss $\times 2$	Anzahl der Protoplaste, deren Grösse: zugenommen.	nicht verändert	abgenommen.
0.12 Aeq. KNO_3	0.20 Aeq. K_2SO_4	1.2	0	21	16
0.12 - -	0.18 - -	1.3	5	33	4
0.12 - -	0.16 - -	1.5	25	11	2
0.12 - -	0.14 - -	1.7	41	0	0
0.18 Aeq. K_2SO_4	0.13 Aeq. KNO_3	1.4	0	3	31
0.18 - -	0.12 - -	1.3	2	28	1
0.18 - -	0.11 - -	1.2	15	8	0
0.18 - -	0.10 - -	1.1	30	0	0

II. *Rohrzucker.*

Nach derselben Methode wurden mittelst *Tradescantia discolor* einige Versuche mit Rohrzucker bei verschiedener Concentration angestellt. Da die Einzelheiten der Versuche genau dieselben waren, wie früher beschrieben, so kann ich ohne Weiteres die Tabelle mittheilen, welche für jeden Versuch die Zahl der Zellen angiebt, deren Protoplaste sich nach dem Wechsel der Lösungen ausgedehnt oder zusammengezogen oder endlich sich gar nicht verändert haben. Ich fasse die drei, mit 0.2, 0.3 und 0.4 Aeq. [1])

1) 0.1 Aeq. = 0.1 Molec. = 3,42 Gramm zu 100 CC aufgelöst.

Rohrzucker angestellten Versuchsreihen in eine Tabelle zusammen.

Rohrzucker.

Versuchs Nummer	Aus KNO_3	Gebracht in Rohrzucker	Verhältniss pro Molec.	Anzahl der Protoplaste, deren Grösse: zugenommen.	nicht verändert	abgenommen.
I a	0.11 Aeq.	0.20 Aeq.	0.55	0	3	37
b	0.12 -	0.20 -	0.60	0	6	31
c	0.13 -	0.20 -	0.65	8	21	4
d	0.14 -	0.20 -	0.70	15	6	3
e	0.15 -	0.20 -	0.75	28	2	0
II a	0.18 -	0.30 -	0.60	0	34	18
b	0.195 -	0.30 -	0.65	9	42	8
c	0.21 -	0.30 -	0.70	13	34	3
III a	0.24 -	0.40 -	0.60	0	18	42
b	0.26 -	0.40 -	0.65	3	43	6
c	0.28 -	0.40 -	0.70	6	32	5

Es geht aus dieser Tabelle hervor, dass das Verhältniss der isotonischen Concentrationen für den Rohrzucker in jeder der drei Versuchsreihen am nächsten = 0.65 gefunden wird, und dass es somit innerhalb der Beobachtungsgrenzen von den angewandten Concentrationen unabhängig ist.

Der isotonische Coëfficient berechnet sich aus diesen Versuchen zu $0.65 \times 3 = 1.95$. Dieser Werth liegt etwas höher als der nach der vergleichenden plasmolytischen Methode bestimmte (Verhältniss der isot. Conc. 0.602; isot. Coëff. 1.81, S. 161). Aber in den drei Versuchen, in denen die Zellen aus 0.12, 0.18, und 0.24 Aeq. KNO_3 in 0.20, 0.30 resp. 0.40 Aeq. Zucker gebracht wurden, wo also das Verhältniss 0.60 obwaltete, fand eine sehr deutliche Contraction der Protoplaste statt, und es unterliegt also keinem Zweifel, dass wenigstens auf dieser Seite diesen Versuchen kein Fehler anhaften kann. Wir werden deshalb für fernere Betrachtungen aus beiden Versuchsreihen das Mittel nehmen dürfen, aber zugleich zugeben müssen, dass Beobachtungsfehler von wenigstens der Hälfte der Differenz beider Zahlen beim Rohrzucker möglich sind. Thatsächlich halte ich die möglichen Beobachtungsfehler hier für noch etwas grösser.

Versuche mit Gemengen verschiedener Verbindungen. Diese Versuche wurden nach der vergleichenden plasmolytischen Methode

mit *Curcuma rubricaulis* als Indicatorpflanze ausgeführt. Für ihre Beschreibung sowie für die Erklärung der Tabellen verweise ich also auf das in § 1 und 2 Gesagte. Die Lösungen wurden durch Mischung von unter sich isotonischen Lösungen verschiedener Stoffe hergestellt und der Versuch hatte also zu ermitteln, ob auch das Gemenge mit den einzelnen Componenten isotonisch war.

In den Tabellen ist der nach Aequivalenten berechnete Gehalt der einzelnen Componenten im Kopfe der linken Hälfte für jede einzelne Mischung angegeben und darunter der Salpeterwerth dieser Lösungen, der also gleichfalls der zu erwartende Salpeterwerth der Mischungen war. Durch den Versuch wird nun der wirkliche Salpeterwerth der Mischungen bestimmt und kann dieser also mit dem im Voraus berechneten Werthe verglichen werden. Die letzte Spalte der Tabellen enthält das Verhältniss beider.

Für die Bereitung der Lösungen u. s. w. vergleiche man die entsprechenden Versuche in § 2.

I. *Mischung zweier Salze.*

Mischungen von einfach saurem citronensaurem Kalium und Chlorammonium.

Mischungen.						Kalisalpeter.					
$K_2HC_6H_5O_7$	0.25	0.27	0.29	0.31							
NH_4Cl	0.11	0.12	0.13	0.14							
Berechneter Salpeterwerth der Mischung	0.11	0.12	0.13	0.14	I. C.	0.11	0.12	0.13	0.14	I. C.	Verhältn.
I	—	n	hp	p	0.13	n	n	p	p	0.125	0.96
II	n	hp	p	—	0.12	n	hp	p	—	0.12	1

II. *Mischung dreier Salze.*

Mischung von einfach saurem citronensaurem Kalium, schwefelsaurem und äpfelsaurem Magnesium.

Mischungen.					Kalisalpeter.					
$K_2HC_6H_5O_7$	0.27	0.29	0.31							
$MgSO_4$	0.36	0.39	0.42							
$MgC_4H_4O_5$	0.36	0.39	0.42							
Berechneter Salpeterwerth der Mischung	0.12	0.13	0.14	I. C.	0.11	0.12	0.13	0.14	I. C.	Verhältn.
I	n	hp	p	0.13	n	n	p	p	0.125	0.96
II	n	hp	p	0.13	n	n	p	p	0.125	0.96

Innerhalb der Beobachtungsfehler bestätigen beide Versuchsreihen also das erwartete Resultat, indem sie zeigen, dass unsere Coëfficienten auch bei der Berechnung des Salpeterwerthes gemischter Lösungen angewandt werden dürfen. 1)

§ 5. *Berechnung älterer Versuche.*

Bereits im Jahre 1871 habe ich, wenn auch zu anderen Zwecken, die schwächsten zur Plasmolyse erforderlichen Concentrationen verschiedener Salze ermittelt. 2) Ich benutzte damals als Material die Parenchymzellen der rothen Rübe. Obgleich dem damaligen Ziele entsprechend diese Concentrationen nicht so genau bestimmt wurden, als zur Berechnung der isotonischen Coëfficienten bis auf eine Decimalstelle erforderlich ist, so sei es mir dennoch gestattet, hier eine Berechnung der damals gewonnenen Zahlen einzuschalten und sie mit den in den vorigen Paragraphen gefundenen zu vergleichen. Ich gebe aber nur die Grenzwerthe, zwischen denen nach jenen älteren Versuchen die Coëfficienten eingeschlossen sein müssen und stelle diese mit den zur Berechnung erforderlichen Elementen in folgende Tabelle zusammen.

Die erste Spalte enthält die Formel der gebrauchten Salze, die zweite ihre Moleculargewichte und die dritte die in meiner citirten Arbeit aufgeführten Zahlen, welche die auf 100 Gewichtstheile Wasser aufgelösten Gewichte der krystallisirten Salze in den isotonischen Lösungen angeben. Hieraus habe ich in der vierten Spalte die auf 100 Theile der Lösung berechnete procentische Zusammensetzung abgeleitet und daraus wiederum in der fünften die in Molecülen ausgedrückten Concentrationen $\left(= \frac{IV}{II} \times 10\right)$. Die sechste enthält endlich die Verhältnisse dieser Zahlen zu den für Kalisalpeter gefundenen Grenzen multiplicirt mit 3, um sie in isotonische Coëfficienten umzuwandeln. Bei dieser letzteren Berechnung ist, um völlige Sicherheit zu haben, dass die fraglichen Coëfficienten nicht ausserhalb der Grenzen fallen können. jedesmal die untere Grenze für Kalisalpeter (0.564), durch die obere für

1) Bei osmotischen Untersuchungen mit künstlichen Membranen fand Pfeffer ebenfalls gleiche Leistung der Componenten einer Mischung im isolirten wie im gemengten Zustande. Vergl. dessen „Osmotische Untersuchungen" S. 70.

2) Sur la perméabilité du protoplasme des betteraves rouges. Opera I S. 36.

das betreffende Salz (z. B. 0.77 für $NaNO_3$), und die obere Grenze für Kalisalpeter (0.644) durch die untere für die übrigen Salze dividirt. Es leuchtet ein, dass bei dieser Behandlung die erstere Zahl kleiner, die zweite grösser als der gesuchte Coëfficient sein muss, dass beide also als Grenzwerthe dieses Coëfficienten betrachtet werden dürfen.

In die siebente Spalte sind die isotonischen Coëffienten nach S. 138 eingetragen. Für Na_2SO_4, welches ich nach meinen jetzigen Methoden nicht untersucht habe, ist der Coëfficient des entsprechenden Kalisalzes, oder vielmehr der der zweibasischen Salze der Alkalimetalle überhaupt genommen, was nach den Erörterungen des IV. Abschnittes ohne Weiteres erlaubt ist.

Dass die rothe Rübe hier den Dienst einer Indicatorpflanze leistete, während sie den in § 1 beschriebenen Anforderungen keineswegs genügt, bedingt es, dass man keine zu grosse Annäherung der Grenzwerthe an den wirklichen Werth der isotonischen Coëfficienten erwarten darf.

I. Salze.	II. Molec.-Gewichte	III. 100 Th. Wasser enthalten	IV. 100 Th. Lösung enthalten	V. Concentration nach Molecülen berechnet	VI. Grenzwerthe der isotonischen Coëfficienten	VII. Isotonische Coëfficienten nach §§ 2—4
KNO_3	101	6—7	5.7—6.5	0,564—0,644	—	—
$NaNO_3$	85	6—7	5.7—6.5	0,67—0,77	2.1—2.9	3
KCl	74.5	4—5	3.8—4.8	0,52—0,64	2.9—3.9	3
$NaCl$	58.5	3—4	2.9—3.8	0,50—0,66	2.7—3.9	3
$Na_2SO_4 + 10H_2O$	354	17—18	14.5—15.3	0,41—0.43	3.9—4.8	4
$MgSO_4 + 7H_2O$	246	26—28	20.6—21.9	0,84—0,89	1.8—2.4	2

Vergleicht man die Zahlen der sechsten und siebenten Spalte, so findet man, dass beim salpetersauren Natrium einer der Grenzwerthe mit dem isotonischen Coëfficienten nahezu zusammenfällt, während bei den übrigen Salzen der wirkliche Werth thatsächlich zwischen den beiden berechneten Grenzwerthen liegt. Die Uebereinstimmung ist also eine so vollständige, als mit einer so ungeeigneten Indicatorpflanze überhaupt zu erwarten war.

Diese Thatsache giebt aber zu einer weiteren Bemerkung Veranlassung. Wenn die isotonischen Coëfficienten mit so verschiedenen Indicatorpflanzen, wie *Curcuma*, *Tradescantia*, *Begonia* und

der rothen Rübe so ganz übereinstimmend gefunden werden, so liegt die Folgerung nahe, dass auch die übrigen Pflanzen, wenn wir sie zu diesem Zwecke benützten, dieselben Resultate geben würden. Die im III. Abschnitt beschriebenen Versuche nach der Methode der Gewebespannung werden diese Folgerung für eine Reihe weiterer Arten bestätigen.

Ist dem aber so, so lässt sich weiter folgern, dass die bei diesen Versuchen maassgebende Membran, die Vacuolenwandung, welche das Protoplasma auf der Innenseite begrenzt, bei allen diesen Arten keine wesentlichen Unterschiede in ihrer Permeabilität für Salzlösungen zeigen wird, dass sie bei allen Arten in nahezu demselben hohen Grade für solche Lösungen undurchlässig sein wird[1]. Ich hebe diese Folgerung deshalb hervor, weil sie bei der Anwendung unserer isotonischen Coëfficienten auf die Analyse der Turgorkraft verschiedener Pflanzen eine wesentliche Rolle spielt, indem erst durch sie das Verfahren völlig berechtigt wird, die erhaltenen Resultate und somit die ganze Methode auf beliebige Pflanzenarten anzuwenden.

Abschnitt III. **Bestimmung der isotonischen Coëfficienten nach der Methode der Gewebespannung.**

§ 1. *Beschreibung der Methode.*

Wenn man wachsende Sprossgipfel der Länge nach in vier möglichst gleiche Streifen spaltet, so krümmen sich diese im Augenblicke der Isolirung bekanntlich mehr oder weniger stark, indem das centrale Parenchym sich verlängert. Legt man einen solchen Streifen in Wasser, so nimmt die Krümmung gewöhnlich sehr rasch zu; legt man einen zweiten Streifen in eine starke Salzlösung, so verliert sie ihre Krümmung, oder letztere kehrt sich um, indem die Epidermis jetzt die convexe Seite einnimmt. Bringt man die Streifen in Salzlösungen von verschiedener Stärke, so wird es offenbar möglich sein, eine Concentration auszusuchen, in der die Kreuzstreifen ihre Krümmung weder verstärken noch vermindern.

Eine solche Lösung entzieht den Zellen kein Wasser, lässt sie aber auch keines aufnehmen. Sie verhält sich also dem Streifen gegenüber *indifferent* und wir werden sie deshalb als solche bezeichnen. Lösungen verschiedener Salze, welche sich gegenüber

1) Vergl. Pfeffer: Osmotische Untersuchungen, S. 178.

demselben Streifen indifferent zeigen, ziehen offenbar mit derselben Kraft Wasser an und sind also unter einander isotonisch. *Die Bestimmung der indifferenten Concentrationen führt somit zur Kenntniss der isotonischen Coëfficienten;* auf dieses Princip beruht die hier zu behandelnde Methode.

Wäre es nun möglich, mit den vier Kreuzstreifen eines und desselben Sprosses die indifferente Concentration für Kalisalpeter und für eine andere Verbindung zu ermitteln, so würde sich aus ihrem Verhältniss ohne Weiteres der sotonische Coëfficient ableiten lassen. Dieses ist nun aber, wie leicht ersichtlich, nicht der Fall, denn man braucht die sämmtlichen vier Kreuzstreifen um eine, wenn auch vorläufig ungefähr ermittelte, jedoch noch nicht genau bekannte indifferente Concentration zu bestimmen. Hieraus ergiebt sich, dass man gezwungen ist, sich mit Mittelzahlen zu begnügen, indem man die mittlere indifferente Concentration für das zu studirende Salz mit einigen Sprossen, und für den Salpeter mit anderen möglichst gleichen Sprossen derselben Art bestimmt. Die so erhaltenen Mittelwerthe dürfen dann als isotonische Concentrationen betrachtet und zur Berechnung des Coëfficienten benutzt werden.

Die individuellen Verschiedenheiten zwischen gleichnamigen, zu gleicher Stunde und an demselben Standorte möglichst sorgfältig ausgewählten Sprossen sind aber immer noch derart, dass nur aus zahlreichen Versuchen Mittelzahlen von hinreichender Genauigkeit abgeleitet werden dürfen.

So zahlreiche Sprosse lieferte mir fast nie eine Pflanze, und ich habe deshalb gewöhnlich drei bis vier Arten zur Feststellung jedes einzelnen isotonischen Coëfficienten benutzt. Ein Blick auf die Tabellen des nächsten Parapraphen wird zeigen, dass die mit verschiedenen Arten für dasselbe Salz berechneten Mittelzahlen stets nur sehr unwesentlich von einander abweichen, dass das Endergebniss somit als von der Natur der benutzten Arten völlig unabhängig betrachtet werden darf. Wäre dies nicht der Fall, so wäre die Methode völlig unzuverlässig, da es sich ja um die Feststellung einer physikalischen Eigenschaft des betreffenden Salzes handelt. Somit liefert uns die Anwendung verschiedener Arten zu demselben Zwecke eine sehr gewünschte Controle. [1])

Nach diesen einleitenden Bemerkungen wenden wir uns jetzt

1) Ueber die Bedeutung dieser Thatsache vergleiche man auch Abschn. II, § 5, S. 187.

zur Beschreibung der angewandten Methode und geben dabei zunächst eine ausführliche Schilderung der Art und Weise, wie die Versuche ausgeführt wurden, um darauf zur Begründung der Methode und zur kritischen Betrachtung der möglichen Fehlerquellen überzugehen.

Bei der Ausführung der Versuche war es nach dem oben Mitgetheilten die Aufgabe, für möglichst gleiche Sprosse derselben Art diejenige mittlere Concentration des Salpeters und des zu untersuchenden Salzes zu bestimmen, in der Kreuzstreifen solcher Sprosse weder an Krümmung zunehmen noch verlieren.

Um dazu stets eine hinreichende Anzahl von Sprossen vorräthig zu haben, wurden für jeden Versuch zehn junge kräftig wachsende, unter sich möglichst gleiche und gleichaltrige Sprosse (meist Blüthenstiele) mit grösster Sorgfalt ausgesucht. Dieses geschah Morgens 8 Uhr; die Sprosse wurden darauf entblättert und in den meisten Fällen entgipfelt, und, nachdem die untere Wandfläche erneuert worden war, in einem engen Cylinderglase in frisches Brunnenwasser völlig untergetaucht. Hier blieben sie während 1—2 Stunden und hatten also die Gelegenheit, das Maximum ihrer Turgescenz zu erreichen und somit etwa vorhandene Unterschiede in ihrem zufälligen Wasserreichthum auszugleichen. Von diesem Materiale dienten 3—4 Exemplare für die Bestimmung der indifferenten Concentration des zu untersuchenden Salzes, 3—4 andere zur Ermittelung desselben Werthes für Kalisalpeter und die übrigen theils als Reserve, theils zu Vorversuchen zur vorläufigen Orientirung über die Lage der betreffenden Grenze (vergl. S. 150). Diese Vorversuche sind in den Tabellen des nächsten Paragraphen nicht mit angeführt und selbstverständlich von der Berechnung der Mittelzahlen ausgeschlossen worden.

Nach hinreichend langem Aufenthalt in Wasser wurde nun mit jedem einzelnen Spross in folgender Weise verfahren. Der jüngste Theil wurde in einer Länge von 7 cm abgeschnitten und flach auf den Tisch gelegt, mit einem scharfen Messer der Länge nach vorsichtig in zwei möglichst gleiche Hälften getheilt. Die beiden Schnittflächen wurden darauf auf Filtrirpapier abgetrocknet und jede Hälfte nochmals in derselben Weise gespalten. Die vier so erhaltenen Kreuzstreifen krümmen sich bei der Isolirung anfangs plötzlich, die Krümmung nimmt aber noch einige Zeit langsam zu, bis sie schliesslich ihr Maximum erreicht. Sobald es völlig sicher, dass dieses Stadium eingetreten ist, wird in einer demnächst zu beschreibenden Weise der Grad der Krümmung abgelesen und

jeder Kreuzstreifen vorsichtig in die für ihn bestimmte Lösung gebracht und untergetaucht. Es sind dazu in vier grosse Uhrgläser je etwa 10 CC der betreffenden Flüssigkeiten gebracht. Für denselben Spross enthalten die Lösungen selbstverständlich dasselbe Salz, aber in verschiedenen Concentrationen. Diese letzteren sind so gewählt, dass zwei ein wenig über und die zwei anderen ein wenig unter dem vorläufig ermittelten mittleren Werthe der indifferenten Concentration liegen. In den Lösungen zeigen nun die Kreuzstreifen je nach der Natur des Salzes schon nach 3—4, oder erst nach einigen weiteren Minuten das Resultat an. In den schwächeren Lösungen sieht man die Krümmungen zunehmen, in den stärkeren nehmen sie ab. Die indifferente Concentration liegt also zwischen der stärksten Lösung, in der die Krümmung zunimmt, und der schwächsten, in der sie sich verringert, und ist somit durch den Versuch um so genauer gefunden, je geringer der Unterschied zwischen diesen beiden Lösungen ist. Für die Berechnung der Mittelzahlen wird in diesen Fällen das Mittel aus diesen beiden Concentrationen als indiffente Concentration für die betreffende Pflanze betrachtet; eine Annahme, welche in Hinblick auf den geringen Unterschied dieser beiden Concentrationen für den hier verfolgten Zweck völlig berechtigt ist. Bisweilen findet in einer der Lösungen weder ein Aufwinden noch ein Zurückgehen statt, und in diesem Falle hat man die indifferente Concentration mit der grössten unter den gegebenen Bedingungen überhaupt möglichen Genauigkeit gefunden.

Nachdem nun drei bis vier gelungene Versuche mit dem fraglichen Salze und ebenso viele mit Kalisalpeter gemacht worden sind, findet die Berechnung in folgender Weise statt. Zunächst leite ich einerseits für das Salz, andererseits für den Kalisalpeter eine mittlere indifferente Concentration aus den einzelnen direct gefundenen Werthen ab. Waren die Sprosse einander genügend gleich, so dürfen nach dem im Eingange Gesagten die beiden mittleren Concentrationen als isotonische betrachtet werden. Ihr Quotient ist also das gesuchte Verhältniss der isotonischen Concentrationen; und aus der Mittelzahl der für drei bis vier Arten in dieser Weise berechneten Verhältnisse lässt sich durch Multiplication mit 3 der isotonische Coëfficient ableiten (S 142).

Die Bestimmung des Krümmungsgrades der Kreuzstreifen geschah in einer sehr einfachen Weise, zu der ich mich entschloss, nachdem manche Versuche, ihn mit dem Cyclometer[1]) zu messen,

1) Opera I S. 165.

dieses Verfahren bei so starken Krümmungen als unbrauchbar hatten erkennen lassen. Ich habe die Krümmung als Kreisbogen betrachtet und nun nach dem Augenmaasse bestimmt, welchen Theil eines ganzen Kreises der Streifen machte. Bis auf $\frac{1}{8}$ des Umfanges lässt sich dies stets mit völliger Sicherheit entscheiden, und die Bewegungen meiner Streifen in den Lösungen waren meist solche, dass in wenigen Minuten weit grössere Aenderungen eintraten. Die Methode reichte in allen Fällen völlig hin, um ohne jeden Zweifel zu constatirten, ob der Streifen seine Krümmung vergrösserte oder verminderte. Konnte ich keine Zu- oder Abnahme mit Sicherheit constatiren, so betrachtete ich die Krümmung als unverändert. Obgleich ich in meinen Notizen die Grösse der Krümmung vor und am Ende des Versuches jedesmal eingeschrieben habe, werde ich diese Zahlen in den Tabellen des folgenden Paragraphen nicht mittheilen, sondern einfach angeben, ob Zu-oder Abnahme, oder endlich Gleichbleiben der Krümmung beobachtet wurde. Denn die Grösse der Veränderung ist für das Resultat gleichgültig.

Die individuellen Verschiedenheiten gleichnamiger Sprosse können als die Hauptquelle der möglichen Fehler in den schliesslichen Werthen der isotonischen Coëfficienten betrachtet werden, gegen der alle anderen Fehlerquellen, bei richtiger Ausführung der Versuche, nahezu ganz verschwinden. Ueberblickt man die Tabellen des folgenden Paragraphen, so fällt es sogleich auf, dass nur in relativ seltenen Fällen für sämmtliche Sprosse derselben Art, welche in denselben Lösungen untersucht wurden, die indifferente Concentration genau dieselbe ist. So lag sie z. B. für *Centranthus ruber* in Chlorkalium bei Einem Sprosse bei 0.18 Aeq., bei einem anderen bei 0.20 Aeq., und bei dem dritten zwischen diesen beiden Werthen. In solchen Fällen zeigten die sämmtlichen vier Streifen Eines Sprosses dasselbe Verhalten, indem auch die der Grenze ferner liegenden durch grössere Zu- oder Abnahme ihrer Krümmung, die abweichende Lage der Grenze bestätigten. Liegt z. B. die indifferente Concentration für einen Spross höher als für einen zweiten, so beobachtet man in gleichen Lösungen unterhalb der Grenze bei ersterem eine stärkere Krümmung, in gleichen Concentrationen oberhalb der Grenze bei ersterem einen geringeren Verlust an Krümmung als bei letzterem. Diese Thatsachen, obgleich nicht in die Tabellen aufgenommen, wurden bei den Versuchen stets berücksichtigt, da sie die Sicherheit gaben, dass nicht etwa

zufällige beim Spalten entstandene Unterschiede in den Streifen die Ursache der abweichenden Grenze waren.

Fast immer sind die Differenzen in der Lage der Grenze gering, und je reichlicher das Material, aus dem man seine Exemplare aussuchen kann, um so vollständiger wird auch die Uebereinstimmung, um so zuverlässiger das Resultat. Bei meinen Versuchen waren es vorwiegend *Centranthus ruber* und *Rudbeckia triloba*, von denen mir ein reichliches Material zur Verfügung stand, und die mit diesen beiden Arten angestellten Versuche lieferten in vielen Fällen auffallend gleiche Resultate. Bei anderen Arten war die Wahl des Materials häufig eine mehr beschränkte und die mit ihnen gemachten Versuche zeigten oft grössere Abweichungen. Mehrere Arten mussten aus diesem Grunde sogar gänzlich von den Versuchen ausgeschlossen werden. Aber auch bei den beiden erwähnten Pflanzen war es nie möglich, diese Fehlerquelle völlig zu umgehen.

Die erwähnten Gründe forderten die Ermittelung von Mittelzahlen, deren Zuverlässigkeit selbstverständlich von der Vergleichbarkeit des Materials und von der Anzahl der zur Berechnung jeder Grösse angestellten Versuche abhängt. Die Anzahl der für einen Versuch disponiblen Exemplare wird aber wesentlich durch die Reichlichkeit des überhaupt vorhandenen Materiales bestimmt, welche nur in seltenen Fällen eine solche ist, dass man auf Ein Mal eine solche Anzahl von Sprossen von einer Art aussuchen kann, dass diese zur Gewinnung einer endgültigen Mittelzahl ausreichen würden. Dazu kommt, dass zu vergleichende Sprosse aus später darzulegenden Gründen an demselben Tage verarbeitet werden müssen. Diese Erfahrungen waren es im Wesentlichen, welche mich bestimmten, die Zahl der Versuchsexemplare jeder einzelnen Art zu beschränken, dagegen aber, wie bereits erwähnt, stets 3—4 verschiedene Arten zur Bestimmung des Coëfficienten eines und desselben Salzes zu benutzen. Es kommen nun gewöhnlich etwa 12—16 Versuche und etwa ebenso viele Control-Versuche in Kalisalpeter auf jedes untersuchte Salz, und der Erfolg hat gelehrt, dass hierdurch der Einfluss der individuellen Verschiedenheiten im Wesentlichen eliminirt wurde.

Die Zahl der Lösungen und die Wahl ihrer Concentrationen, welche für jeden einzelnen Versuch benutzt werden konnten, war bei dieser Methode selbstverständlich eine beschränkte. Nur dünne Sprosse haben eine hinreichende Empfindlichkeit für unsere Versuche, und diese lassen sich, ohne wesentliche Beeinträchtigung der Vergleichbarkeit der einzelnen Streifen, in nicht mehr als vier

Streifen zerlegen. Für jeden einzelnen Spross können also nur vier Lösungen verschiedener Stärke zur Ermittelung der indifferenten Concentration benutzt werden. Diese müssen aber im Voraus gewählt werden, bevor man die individuelle Lage der Grenze für den betreffenden Spross kennt. Hieraus ergiebt sich, dass die Wahl so getroffen werden muss, dass sie alle die zu erwartenden Verschiedenheiten dieser Grenze umfassen. Je grösser nun die individuellen Abweichungen sind, um so geringer wird die erlaubte Annäherung der einzelnen Concentrationsgrade an einander sein. Es leuchtet aber ein, dass gerade von dieser Annäherung die erreichbare Genauigkeit der Zahlen bedingt wird, und es sind also die individuellen Verschiedenheiten in Verbindung mit der beschränkten Zahl der Streifen eines Sprosses, welche dieser Genauigkeit ihre Grenze anweisen.

Nach mehrfachen Vorversuchen hat sich herausgestellt, dass eine Concentrationsdifferenz von 0.02 Aeq. beim Kalisalpeter für alle Fälle zweckmässig ist, und die bei den übrigen Salzen erlaubten Differenzen liessen sich damit aus den Ergebnissen meiner Vorversuche jedesmal leicht berechnen.

Wählt man die Unterschiede geringer, so ist es eine leicht vorherzusagende Folge der individuellen Verschiedenheiten, dass für manche Sprosse die indifferente Concentration ausserhalb der vier für den Versuch gewählten Lösungen fallen wird, und dass solche Sprosse also für die Bestimmung der Mittelzahlen verloren sind. Dazu kommt, dass die Bewegungen der Streifen um so geringer ausfallen, je näher die Lösungen der Grenz-Concentration gewählt sind, und es würde hierdurch die Bestimmung der Grenze häufig ebenso viel an Genauigkeit verlieren, als sie durch die grössere Annäherung der Concentrationen gewinnen würde.

Alle diese Gründe bestimmten mich, eine zu geringe Differenz der einzelnen Concentrationen zu vermeiden, und die oben genannte Zahl (0.02 Aeq. Kalisalpeter) bei sämmtlichen Versuchen in Anwendung zu bringen. Aber auch bei dieser Bestimmung bleibt eine möglichst sorgfältige Auswahl des Versuchsmateriales eine der wichtigsten Bedingungen der Genauigkeit des Resultates.

Nachdem somit die Hauptzüge der Methode besprochen und ihre Nothwendigkeit unter den gegebenen Umständen dargethan worden, können wir jetzt zur näheren Erläuterung der weiteren Einzelheiten übergehen. Es wird sich dabei zeigen, dass auch diese durch das Streben, Fehlerquellen möglichst zu vermeiden, vorgeschrieben worden sind.

In erster Linie kommt *die Dauer der Versuche* in Betracht, und habe ich die Gründe auseinander zu setzen, welche einen längeren Aufenthalt der Streifen in den Lösungen nicht wünschenswerth machten. Meine Versuche dauerten nur so lange, bis mit voller Sicherheit zu entscheiden war, ob eine Zunahme oder eine Abnahme der Krümmungen stattfand, mit anderen Worten, ob die Concentration der betreffenden Lösung, oberhalb oder unterhalb der indifferenten Concentration für den untersuchten Spross lag. Dieses erforderte bei rasch diffundirenden Salzen meist nur 3—4, bei den meisten weniger diffusiblen Stoffen 4—6 Minuten, bei schwer diffundirenden Salzen wie das Citronensaure Magnesium noch längere Zeit. In einer so kurzen Frist wird die wahrnehmbare Bewegung ausschliesslich durch den osmotischen Vorgang der Aufnahme oder Abgabe von Wasser durch die lebendigen Zellen bedingt, also gerade durch den Process, der als Grundlage unserer Methode gewählt wurde. Lässt man die Streifen während einer längeren Zeit in den Lösungen, so erschlaffen sie in den stärkeren vollkommen, in denjenigen aber, welche anfangs eine Zunahme der Krümmung bedingten, nimmt diese nachher stundenlang zu, da das Mark zu wachsen fortfährt und sich dabei bedeutend stärker verlängert als die Epidermis. Diese Erfahrungen sprechen nun zwar nicht gegen eine längere Versuchsdauer, wohl aber ist dieses der Fall mit jenen Lösungen, welche anfangs eine geringe Abnahme der Krümmung verursachen und also der indifferenten Concentration auf der oberen Seite am nächsten liegen. Denn in diesen kehrt die Bewegung der Kreuzstreifen nach kürzerer oder längerer Zeit um, indem sie anfangen, sich aufzuwinden, weil auch in ihnen Wachsthum, wenn auch langsam, stattfindet. Dieser Umstand hat zur Folge, dass die Versuche stets beendigt werden müssen, bevor dieser Einfluss des Wachsthums sich geltend machen kann. Bei längerer Versuchsdauer wird somit die Reinheit des Vorganges getrübt, namentlich in jenen Lösungen, welche die gesuchte Grenze am nächsten umschliessen, und auf welche es also gerade am meisten ankommt.

Wie das Wachsthum unverletzter Sprosse, nach Sachs' schönen Untersuchungen, stossweise vor sich geht, so nimmt auch die Krümmung der Kreuzstreifen unter den gegebenen Versuchsbedingungen stossweise zu. Und zwar sind die Stösse in den meisten Fällen so stark und so unregelmässig, dass sie den normalen Gang der Krümmungszunahme unkenntlich machen, und somit eine Vergleichung der Krümmungsintensität derselben Streifen zu ver-

schiedenen Zeiten, oder auch verschiedener Streifen nach derselben Zeit, völlig illusorisch machen. Vielfache Versuche denselben Streifen nach einander in zwei verschiedenen Salzlösungen zu untersuchen und dadurch nach Art der plasmolytischen Transportmethode (S. 172) die individuellen Verschiedenheiten völlig zu umgehen, scheiterten auf diese stossweisen Aenderungen des Wachsthums.

Eine zweite Ursache, welche mich veranlasste, die Versuchsdauer möglichst zu beschränken, ist die Gefahr des Sterbens, der die Parenchymzellen in der Nähe der Wundfläche ausgesetzt sind. Es leuchtet ein, dass das Sterben einzelner Zellen eine Verkürzung des Parenchyms an der betreffenden Stelle und somit eine Abnahme der Krümmung des ganzen Streifens zur Folge haben muss. Dieses machte sich in Streifen, welche anfangs ihre Krümmung verstärkten, oft bereits nach 5—6 Stunden durch eine Verminderung der Krümmungsintensität unter zunehmender Erschlaffung fühlbar, bei einigen Arten sogar in noch kürzerer Frist.

Durch die kurze Versuchsdauer wird andererseits eine unvermeidliche Fehlerquelle eingeführt, welche bei rasch diffundirenden Salzen zwar unschädlich ist, bei langsam diffundirenden aber nicht ohne Einfluss auf das endgültige Resultat bleiben kann, wie bereits im ersten Abschnitt S. 148 auseinander gesetzt wurde. Denn letztere dringen während des kurzen Aufenthalts der Sprosse in den Lösungen nicht so vollständig in das Gewebe ein wie der Salpeter, ihre Wirkung muss also relativ zu schwach gefunden werden. Aus diesem Grunde ist zu erwarten, das bei Salzen wie citronensaures Kalium oder Magnesium, bei Rohrzucker u. s. w. die isotonischen Coëfficienten um ein Geringes zu niedrig gefunden werden.

In zweiter Linie ist *der Einfluss des Wassergehaltes* zu betrachten. Frisch abgeschnittene Sprosse derselben Art wechseln je nach den Umständen äusserst stark in ihrem Wassergehalt. Ich habe meine Sprosse deshalb stets vor den Versuchen in den Zustand maximaler Turgescenz versetzt, denn nur in diesem sind sie hinreichend vergleichbar. Versäumt man dieses, so ist man einer Reihe von Fehlern ausgesetzt, welche wir jetzt kurz erörtern wollen. Es ist leicht einzusehen, dass die indifferente Concentration zu hoch gefunden werden muss, wenn man Sprosse im welken Zustande untersucht. Denn wenn die Zellsäfte durch Verdünstung Wasser verloren haben, so ist ihre Concentration und somit ihre Affinität zu Wasser zeitweise eine grössere. Versuche mit *Oenan-*

the silaifolia und *Levisticum officinale* bestätigten diese Folgerung und zeigten, dass ein 1—2 stündiger Aufenthalt entblätterter und entgipfelter Sprosse an der Luft bereits eine Verschiebung der indifferenten Concentration um etwa 0,04 Aeq. Kalisalpeter mit sich führen kann. Der Wasserreichthum pflanzlicher Organe nimmt, zumal an sonnigen Tagen, während des Tages stetig ab; und Sprosse von *Centranthus ruber*, um drei Uhr des Nachmittags eingesammelt, zeigten dementsprechend einen erheblich höheren Werth für die indifferente Concentration als solche, welche an demselben Tage Morgens 8 Uhr abgeschnitten und untersucht waren. Zu verschiedenen Tageszeiten abgeschnittene Sprosse sind also nicht vergleichbar. Ebenso liegt der erwähnte Werth bei trockenem Wetter höher, als nachdem es einige Tage geregnet hat; es ist dies der Grund weshalb an jedem Tage die Controle mit Kalisalpeter für die benutzte Art wiederholt werden musste. An einer schattigen, feuchten Stelle gewachsene Pflanzen haben eine niedrigere indifferente Concentration als andere Exemplare derselben Art, welche sich auf offenem Felde, in trockenem Boden entwickelten. Beschattete Sprosse dürfen mit gut beleuchteten sogar derselben Pflanze nicht verglichen werden. Auf diese Umstände ist bei der Wahl des Materiales Rücksicht zu nehmen, und die Auswahl der brauchbaren Arten wird hierdurch wesentlich beschränkt.

Ein ein- bis zweistündiger Aufenthalt der um 8 Uhr Morgens eingesammelten und entblätterten Sprosse in Wasser genügte völlig, um noch etwa vorhandene Differenzen im Wassergehalt auszugleichen. Da aber die mit einer Art anzustellenden 6—8 Versuche etwa eine Stunde in Anspruch nehmen und ich an jedem Morgen mit zwei Arten die Versuche durchführte, wechselte der Aufenthalt der einzelnen Sprosse im Wasser von etwa 2 bis 4 Stunden. Um mich zu überzeugen, dass hierdurch keine Ungleicheit bedingt wurde, habe ich mit *Centranthus ruber* und *Rudbeckia triloba* mit an demselben Morgen und gleichzeitig eingesammeltem Materiale einige Versuche nach einer, andere aber erst nach etwa 2—4 Stunden gemacht. Im Mittel aus je sechs Versuchen war die Differenz in der Lage der indifferenten Concentration für erstere Art 0 und für die zweite 0.007 Aeq. Kalisalpeter, also eine zu vernachlässigende Grösse.

Befolgt man die gegebene Vorschrift, so ist also ein Fehler aus etwaigen Differenzen im Wassergehalte der Sprosse nicht zu befürchten.

Die Ausführung der Versuche bringt einige Fehlerquellen mit sich, deren Einfluss aber bei genauem Arbeiten beseitigt werden kann. Sie sollen jetzt noch kurz berührt werden.

Fallen die vier Kreuzstreifen eines Sprosses nicht völlig gleich aus, so wird dadurch zwar nicht die Lage ihrer indifferenten Concentration, wohl aber ihre Empfindlichkeit beeinflusst. In solchen Fällen habe ich stets die beiden sich am stärksten krümmenden, also empfindlichsten Streifen der vermuthlichen Grenze zunächst gebracht, wodurch das Resultat nur an Schärfe gewinnen konnte. Wichtiger ist es, dass die Streifen gerade so lange an der Luft bleiben, dass sie dort ihre volle Krümmung annehmen, ohne durch Verdunstung etwas zu verlieren. Denn wird ein Streifen zu rasch in eine Lösung von nahezu indifferenter Concentration gebracht, so wird er hier anfangs seine Krümmung verstärken, auch wenn die Lösung ihm Wasser entzieht, und also in dem nächsten Augenblicke ein Entwinden veranlassen wird. Hat der Streifen an der Luft durch Verdunstung Wasser verloren, bevor er in die Lösung gelangte, und liegt die Concentration dieser letzteren nur wenig oberhalb der indifferenten, so beobachtet man gleichfalls erst eine Zunahme und bald darauf eine Abnahme der Windungen. In beiden Fällen rührt die anfängliche Zunahme der Krümmung von dem zu langen resp. zu kurzen Aufenthalt in der Luft her, und ist also für die Bestimmung der indifferenten Concentration nicht entscheidend. Glücklicherweise ist diese Fehlerquelle nur bei langsam diffundirenden Lösungen gefährlich; die stärkere Wirkung der rasch diffundirenden Salze liess eine solche anfängliche Zunahme der Krümmung in Lösungen oberhalb der indifferenten Concentration nur sehr selten zur Geltung kommen. Unterhalb dieser Concentration ist sie selbstverständlich nicht zu befürchten, und in einiger Entfernung oberhalb kann die Erscheinung gleichfalls niemals eintreten, weil hier den Sprossen zu rasch Wasser entzogen wird.

Ganz besondere Sorgfalt wurde bei meinen Versuchen auf die Herstellung reiner Lösungen verwendet. Da hierbei aber die bekannten Regeln der Chemie gefolgt wurden, so halte ich eine ausführliche Beschreibung für überflüssig. Das wichtigste wird bei den einzelnen Versuchen angegeben werden, soweit es wenigstens nicht bereits in § 2 des vorigen Abschnittes mitgetheilt wurde. Ich verweise deshalb auf die dort beschriebenen Versuche.

§ 2. *Beschreibung der Versuche.*

Nach der im vorigen Paragraphen beschriebenen Methode habe ich im Juli und August 1882 für die wichtigsten der gewöhnlichen Bestandtheile des Zellsaftes und für einige andere Stoffe die isotonischen Coëfficienten bestimmt. Die Resultate sind in den folgenden Tabellen enthalten, zu deren Erläuterung Folgendes bemerkt werden mag.

Jede Tabelle enthält die Versuche mit Einem Stoffe und die Controleversuche mit Kalisalpeter, welche mit vergleichbaren und in gleicher Weise behandelten Sprossen angestellt wurden. In jeder dieser beiden Hälften der Tabelle giebt jede Horizontalzeile die mit den vier Kreuzstreifen desselben Sprosses gewonnenen Resultate an; jede Verticalspalte die in derselben Lösung angestellten Versuche; die Concentration der Lösungen ist über den einzelnen Spalten eingetragen worden. Das Zeichen + bedeutet eine Zunahme, — eine Abnahme der Windungen, während bei = keine Aenderung in dem Krümmungszustande eingetreten ist. Für jeden Spross sind gewöhnlich sämmtliche vier Beobachtungen mitgetheilt, obgleich eine oder zwei genügend gewesen wären; in manchen Fällen sind aber, um die Zahl der Spalten nicht unnöthiger Weise zu vergrössern, nur drei der vier Beobachtungen aus meinen Notizen angeführt worden.

Es verdient besonders hervorgehoben zu werden, dass nur die Gesammtheit der mit einer Art angestellten Versuche mit den betreffenden Controleversuchen verglichen werden soll, und dass nicht etwa die beiden in derselben Horizontalzeile stehenden Versuche zu einander in irgendwie innigerer Beziehung stehen als zu den übrigen Sprossen derselben Art in derselben Tabelle. Die Anordnung der verschiedenen mit derselben Art angestellten Experimente ist eine rein zufällige.

Jeder einzelne mit Einem Spross angestellte Versuch hatte zum Zweck, die indifferente Concentration für diesen zu bestimmen, d. h. zu ermitteln, bei welcher Concentration seine Kreuzstreifen sich weder auf- noch abwinden. Aus den in den Tabellen mitgetheilten Beobachtungen an den einzelnen Streifen wurde dieses Resultat nach S. 191 abgeleitet und in die Ind. Conc. (Indifferente Concentration) überschriebene letzte Spalte jeder Hälfte eingetragen. Die mittleren indifferenten Concentrationen, wie sie für dieselbe Art mit der untersuchten Verbindung und mit Kalisalpeter gefunden wurden, sind nach dem vorigen Paragraphen als

isotonische Concentrationen zu betrachten, und zur Berechnung der isotonischen Coëfficienten zu verwerthen.

Diese Berechnung findet sich unterhalb der Tabellen. Zunächst habe ich für jede Art die mittlere indifferente Concentration für das betreffende Salz und für den Salpeter berechnet. Für die Salze einbasischer Säuren mit alcalischer Base sind die Aequivalentzahlen und Moleculargewichte dieselben und weisen die in Aeq. ausgedrückten Concentrationen ohne weiteres die Zahl der Molecüle pro Liter an. Das Verhältniss beider Zahlen ist hier also direct verwendbar. Für die Salze der zwei- oder dreibasischen Säuren und für jene der Erdalkalien bedürfen diese Zahlen zuerst der Umrechnung in Molecüle, was je nach der Valenz der betreffenden Verbindung durch Multiplication mit ½ resp. ⅛ erreicht und jedesmal angegeben wird.

Bei der Berechnung der Mittelzahlen habe ich die Brüche der Umrechnung in Decimalen vorgezogen und aus diesem Grunde den Gehalt der isotonischen Lösungen an Molecülen pro 100 Liter angegeben. Die Verhältnisse habe ich bis zur dritten Decimale berechnet, die isotonischen Coëfficienten nur bis zur zweiten.

I. *Rohrzucker.*

Rohrzucker. $C_{12}H_{22}O_{11}$. Mol.-Gew. 342.

Die Lösungen wurden aus reinstem Kandiszucker, welcher pro Gramm weniger als 1 Milligramm Asche enthielt, bereitet, und nach Procenten dargestellt. Salpeterlösungen in Aequivalenten. Als Versuchsmaterial dienten junge, die seitlichen Inflorescenzen tragende Sprosse von *Centranthus ruber*, Blüthenstiele von *Eschscholtzie californica Rudbeckia triloba* und von männlichen Blüthen der *Lagenaria vulgaris.*

	Rohrzucker.							Kalisalpeter.					
	8	8.5	9	9.5	10	10.5	Ind. Conc.	0.12	0.14	0.16	0.18	0.20	Ind. Conc.
Centranthus ruber. . .				+	—	—	9.75%		+	+	+	—	0.19
Nr. II				+	=	—	10		+	+	+	—	0.19
Nr. III				+	—	—	9.75		+	+	=	—	0.18
Rudbeckia triloba. . .			+	+	=	—	10		+	+	—	—	0.17
Nr. II			+	—	—	—	9.25		+	+	=	—	0.18
Nr. III			+	+	=	—	10		+	+	—	—	0.17
Nr. IV			+	+	—	—	9.75						

	Rohrzucker.							Kalisalpeter.					
	8	8.5	9	9.5	10	10.5	Ind. Conc.	0.12	0.14	0.16	0.18	0.20	Ind. Conc.
Eschscholtzia californlca			+	+	—		9.75		+	+	—	—	0.17
Nr. II			+	=	—	—	9.5		+	+	—	—	0.17
Nr. III			+	=	—	—	9.5		+	+	—	—	0.17
Nr. IV			+	—	—	—	9.25						
Lagenaria vulgaris . .	+	=	—	—			8.5	+	=	—			0.14
Nr. II	+	—	—	—			8.25	+	+	—			0.15
Nr. III	+	—	—	—			8.25	+	=	—			0.14

Die mittleren indifferenten Concentrationen für die einzelnen Arten enthalten also pro 100 Liter die folgenden Anzahlen Molecüle:

	Rohrzucker.	KNO_3	Verhältniss.
Centranthus ruber	$9\frac{5}{6} \times \frac{1}{342}$	$18\frac{2}{3}$	0.649
Rudbeckia triloba	$9\frac{3}{4} \times \frac{1}{342}$	$17\frac{1}{3}$	0.608
Eschscholtzia californica	$9\frac{1}{2} \times \frac{1}{342}$	17.0	0.612
Lagenaria vulgaris	$8\frac{1}{3} \times \frac{1}{342}$	$14\frac{1}{3}$	0.588

Somit ist für Rohrzucker:

das mittlere Verhältniss zwischen den isotonischen Concentrationen . . . 0.614,

der isotonische Coëfficient . . . . . . 1.84.

II. *Invertzucker.*

Invertzucker (Dextrose und Levulose) $C_6 H_{12} O_6$. Molec.-Gew. 180.

Die vollständig invertirte Rohrzuckerlösung wurde auf etwa 10 pCt. Invertzucker verdünnt; sie enthielt nun 10.20 pCt. Trockensubstanz und keine Asche (vergl. S. 161).

Die für die Versuche bestimmten Lösungen sind nach Procenten dargestellt, und durch Verdünnung aus jener ersten Lösung bereitet.

Als Versuchsmaterial dienten, ausser den im vorigen Versuche

genannten Arten, noch die Blüthenstiele von *Cephalaria leucantha.*

	Invertzucker.						Kalisalpeter.						
	4.5	5.0	5.5	6.0	6.5	Ind. Conc.	0.14	0.16	0.18	0.20	0.22	0.24	Ind. Conc.
Centranthus ruber . .		=	−	−	−	5.0%		=	−	−	−		0.16
Nr. II	+	=	−			5.0	+	=	−	−			0.16
Nr. III	+	=	−			5.0	+	+	−	−			0.17
Nr. IV	+	=	−			5.0	+	=	−	−			0.16
Rudbeckia triloba . . .	+	=	−			5.0	+	+	+	−			0.19
Nr. II	+	+	−			5.25	+	+	−	−			0.17
Nr. III	+	+	−			5.25	+	+	−	−			0.17
Nr. IV	+	=	−			5.0							
Cephalaria leucantha.		+	+	=	−	6.0				=	−	−	0.20
Nr. II			+	+	−	6.25			+	+	=	−	0.22
Nr. III			+	=	−	6.0							
Nr. IV			+	−	−	5.75							

Die mittleren indifferenten Concentrationen für die einzelnen Arten enthalten also pro 100 Liter die folgenden Anzahlen Molecüle:

	Invertzucker.	KNO_3	Verhältniss.
Centranthus ruber	$5.0 \times \frac{1}{180}$	$16\frac{1}{4}$	0.585
Rudbeckia triloba	$5\frac{1}{8} \times \frac{1}{180}$	$17\frac{2}{3}$	0.620
Cephalaria leucantha	$6.0 \times \frac{1}{180}$	21	0.630

Somit ist für Invertzucker:

das mittlere Verhältniss der isotonischen Concentrationen 0.612,

der isotonischen Coëfficient . . . 1.84.

Mit denselben Arten und genau in derselben Weise wurde für reinen Traubenzucker des Handels der isotonische Coëfficient zu 1.91 gefunden. Da ich aber die Substanz nicht selbst gereinigt habe, theile ich die betreffenden Versuche nicht mit.

III. *Chlorkalium.*

K Cl. Mol.-Gew. 74.5.

Reines Chlorkalium wurde durch Umkrystallisiren weiter gereinigt.

Als Versuchsmaterial dienten ausser den früher namhaft gemachten Arten noch die Stiele jugendlicher Blüthenschirme von *Sium latifolium* und *Aethusa Cynapium.*

	Chlorkalium.					Kalisalpeter.				
	0.16	0.18	0.20	0.22	Ind. Conc.	0.14	0.16	0.18	0.20	Ind. Conc.
Centranthus ruber	+	+	=	—	0.20	+	+	+	—	0.19
Nr. II	+	=	—	—	0.18	+	+	+	—	0.19
Nr. III	+	+	—	—	0.19	+	+	+	—	0.19
Eschscholtzia californica . .	+	—	—		0.17	+	—	—	—	0.15
Nr. II	+	—	—		0.17	+	+	=	—	0.17
Nr. III	+	=	—		0.18	+	+	—	—	0.17
Sium latifolium	+	+	—		0.19	+	+	—	—	0.17
Nr. II	+	=	—		0.18	+	+	—	—	0.17
Nr. III	+	=	—		0.18	+	—	—	—	0.15
Nr. IV	+	—	—		0.17	+	=	—	—	0.16
	0.38	0.32	0.34	0.36		0.28	0.30	0.32	0.34	
Aethusa Cynapium	+	+	—		0.33		+	=	—	0.32
Nr. II	+	+	—	—	0.33	+	=	—	—	0.30
Nr. III	+	+	—	—	0.33	+	+	=	—	0.32

Die mittleren indifferenten Concentrationen für die einzelnen Arten enthalten also pro 100 Liter die folgenden Anzahlen Molecüle:

	Chlorkalium.	KNO_3	Verhältniss.
Centranthus ruber	19	19	1.00
Eschscholtzia colifornica	17 1/3	16 1/3	0.942
Sium latifolium	18	16 1/4	0.903
Aethusa Cynapium	33	31 1/3	0.949

Somit ist für Chlorkalium:

das mittlere Verhältniss der isotonischen Concentrationen 0.948,

der isotonische Coëfficient . . . . . 2.84.

IV. *Chlornatrium.*

Na Cl. Mol.-Gew. 58.5.

Das Salz wurde durch Umkrystallisiren gereinigt, und die Reinheit mittelst einer auf Zehntelnormal-Salzsäure gestellten Lösung von salpetersaurem Silber geprüft. Als Versuchsmaterial dienten jun-

ge, die seitlichen Inflorescenzen tragende Sprosse von *Centranthus ruber*, Blüthenstiele von *Eschscholtzia californica*, und Seitensprosse von *Impatiens Roylii*, letztere von einem schattigen Standort.

	Chlornatrium.					Kalisalpeter.					
	0.14	0.16	0.18	0.20	Ind. Conc.	0.12	0.14	0.16	0.18	0.20	Ind. Conc.
Centranthus ruber . . .	+	+	—	—	0.17		+	+	—	—	0.17
Nr. II	+	+	+	—	0.19		+	+	—	—	0.17
Nr. III	+	+	—	—	0.17		+	+	—	—	0.17
Nr. IV	+	+	—	—	0.17		+	+	=	—	0.18
Eschscholtzia californica	+	+	—		0.17		+	+	—		0.17
Nr. II	+	—	—	—	0.15		+	+	—	—	0.17
Nr. III	+	=	—	—	0.16		+	+	—	—	0.17
Nr. IV	+	=	—	—	0.16						
Impatiens Roylii.	+	=	—		0.16	+	+	—	—		0.15
Nr. II	+	—	—		0.15	+	+	=	—		0.16
Nr. III	+	—	—		0.15	+	=	—	—		0.14
Nr. IV	+	—	—		0.15	+	+	=	—		0.16

Die mittleren indifferenten Concentrationen für die einzelnen Arten enthalten also pro 100 Liter die folgenden Anzahlen Molecüle:

	Chlornatrium.	KNO_3	Verhältniss.
Centranthus ruber	17½	17¼	0.986
Eschscholtzia californica	16	17	1.062
Impatiens Roylii	15¼	15¼	1.00

Somit ist für Chlornatrium:

das mittlere Verhältniss der isotonischen Concentrationen 1.016,
der isotonische Coëfficient . . . . . 3.05.

V. *Oxalsaures Kalium.*

$K_2 C_2 O_4$. Aequivalentzahl 83. Mol.-Gew. 166.
Krystalle: $K_2C_2O_4 + H_2O$. Aequivalentzahl 92. Mol.-Gew. 184.
Das krystallisirte neutrale oxalsaure Kalium des Handels zeigte sich bei Einäscherung im Platinatiegel und Titrirung der Asche als rein, und wurde somit zu den Versuchen benutzt. Als Versuchsmaterial dienten ausser den jugendlichen, die seitlichen Inflorescenzen tragenden Sprossen von *Centranthus ruber*, noch jugendliche

Blüthenstiele von *Rudbeckia triloba* und *Scorzonera hispanica*. Bei der letzteren Art wurden die Controleversuche im Kalisalpeter ausnahmsweise 3—4 Stunden später als die Hauptversuche angestellt, die zur Controle verwandten Sprosse haben also bedeutend längere Zeit im Wasser untergetaucht gestanden, als die für den Hauptversuch bestimmten.

	Oxalsaures Kalium.							Kalisalpeter.					
	0.26	0.28	0.30	0.32	0.34	0.36	Ind. Conc.	0.16	0.18	0.20	0.22	0.24	Ind. Conc.
Centranthus ruber .	+	+	=				0.30	+	+	=	—		0.20
Nr. II	+	+	+	—			0.31	+	+	=	—		0.20
Nr. III	+	=	—	—			0.28	+	+	=	—		0.20
Rudbeckia triloba .	+	=	—				0.28	+	+	—	—		0.19
Nr. II	+	=	—				0.28	+	+	—	—		0.19
Nr. III	=	—	—				0.26	+	=	—	—		0.18
Scorzonera hispanica			+	+	=	—	0.34		+	+	—	—	0.21
Nr. II			+	+	—	—	0.33		+	=	—	—	0.20
Nr. III			+	+	—	—	0.33		+	=	—	—	0.20

Die mittleren indifferenten Concentrationen für die einzelnen Arten enthalten also pro 100 Liter die folgenden Anzahlen Molecüle:

	Oxalsaures Kalium.	KNO_3	Verhältniss.
Centranthus ruber	$29^2/_3 \times {}^1/_2$	20	1.348
Rudbeckia triloba	$27^1/_3 \times {}^1/_2$	$18^2/_3$	1.366
Scorzonera hispanica	$33^1/_3 \times {}^1/_2$	$20^1/_3$	1.220

Somit ist für oxalsaures Kalium:

das mittlere Verhältniss der isotonischen Concentrationen 1.311,

der isotonische Coëfficient . . . . . . 3.93.

VI. *Schwefelsaures Kalium.*

K_2SO_4. Aequivalentzahl 87. Mol.-Gew. 174.

Die Versuche wurden mit dem durch Umkrystallisiren gereinigten Salze angestellt. Ausser bereits früher genannten Arten kamen auch jugendliche Schirmstiele von *Apium graveolens* zur Verwendung.

	Schwefelsaures Kalium								Kalisalpeter.					
	0.22	0.24	0.26	0.28	0.30	0.32	0.34	Ind. Conc.	0.14	0.16	0.18	0.20	0.22	Ind. Conc.
Centranthus ruber . .			+	—	—			0.27	+	+	—	—		0.17
Nr. II		+	+	—	—			0.27		+	—	—		0.17
Nr. III		+	=	—	—			0.26	+	+	—	—		0.17
Nr. IV		+	—	—	—			0.25						
Eschscholtzia californica	+	+	—					0.25	+	=	—			0.16
Nr. II	+	=	—	—				0.24	+	+	—			0.17
Nr. III	+	=	—	—				0.24	+	+	—			0.17
Sium latifolium	+	+	=					0.26	+	+	—	—		0.17
Nr. II	+	=	—	—				0.24	+	+	—	—		0.17
Nr. III	+	+	+	—				0.27	+	+	+	—		0.19
Nr. IV	+	+	+	—				0.27	+	+	—	—		0.17
Nr. V	+	+	+	—				0.27						
Apium graveolens . .						+	—	0.33				+	—	0.21
Nr. II						+	—	0.33			+	—	—	0.19
Nr. III					=	—	—	0.30			+	—	—	0.19
Nr. IV					+	+	—	0.33			+	=	—	0.20

Die mittleren indifferenten Concentrationen für die einzelnen Arten enthalten also pro 100 Liter die folgenden Anzahlen Molecüle:

	Schwefelsaures Kalium.	KNO_3	Verhältniss.
Centranthus ruber	$26\frac{1}{4} \times \frac{1}{2}$	17	1.295
Eschscholtzia californica	$24\frac{1}{3} \times \frac{1}{2}$	$16\frac{2}{3}$	1.370
Sium latifolium	$26\frac{1}{5} \times \frac{1}{2}$	$17\frac{1}{2}$	1.336
Apium graveolens	$32\frac{1}{4} \times \frac{1}{2}$	$19\frac{3}{4}$	1.224

Somit ist für schwefelsaures Kalium:

das mittlere Verhältniss der isotonischen Concentrationen 1.308,

der isotonische Coëfficient . . . . . 3.92.

VII. *Phosphorsaures Kalium.*

K_2HPO_4. Aequivalentzahl 58. Mol.-Gew. 174.

Die Lösung dieses Salzes wurde dargestellt, indem reine Phosphorsäure mit zwei Drittel Aequivalent reinem kohlensaurem Kalium versetzt, und die Kohlensäure durch vorsichtiges Erwärmen entfernt wurde. Durch Verdünnung auf ein vorher bestimmtes Volum wurden dann die Lösungen für die Versuche gemacht. Sie rea-

girten auf Lakmusspapier amphotisch. Versuche lehrten, dass Kreuzstreifen in Lösungen dieses Salzes von nahezu indifferenter Concentration ihre Krümmung während mehrerer Stunden vergrössern, und nach etwa 12 Stunden noch völlig turgescent und lebendig sind; die Lösungen dürfen somit für die Hauptversuche als unschädlich betrachtet werden. Zu dem früheren Versuchsmaterial kamen noch junge Blüthenstiele männlicher Blüthen von *Lagenaria vulgaris*.

	Phosphorsaures Kalium.							Kalisalpeter.				
	0.36	0.38	0.40	0.42	0.44	0.46	Ind. Conc.	0.14	0.16	0.18	0.20	Ind. Conc.
Centranthus ruber . .			+	—	—	—	0.41	+	+	+	=	0.20
Nr. II			+	=	—		0.42		+	+	—	0.19
Nr. III			+	+	—	—	0.43		+	+	—	0.19
Nr. IV			+	+	+	=	0.46					
Impatiens Roylii . . .		+	=	—			0.40	+	+	—	—	0.17
Nr. II		=	—	—			0.38	+	=	—	—	0.16
Nr. III	=	—	—	—			0.36	+	=	—	—	0.16
	0.30	0.32	0.34	0.36	0.38	0.40		0.12	0.14	0.16	0.18	
Lagenaria vulgaris . .	+	—	—				0.31	+	=	—	—	0.14
Nr. II	+	+	—				0.33	+	=	—	—	0.14
Nr. III								+	+	—	—	0.15
Sium latifolium			+	+	+	—	0.39		+	=	—	0.16
Nr. II			+	=	—	—	0.36		+	+	—	0.17
Nr. III			+	=	—	—	0.36		+	—	—	0.15

Die mittleren indifferenten Concentrationen für die einzelnen Arten enthalten somit pro 100 Liter die folgenden Anzahlen Molecüle:

	Phosphorsaures Kalium.	KNO_3	Verhältniss.
Centranthus ruber	$43 \times 1/3$	$19\,1/3$	1.349
Impatiens Roylii	$38 \times 1/3$	$16\,1/3$	1.289
Lagenaria vulgaris	$32 \times 1/3$	$14\,1/3$	1.344
Sium latifolium	$37 \times 1/3$	16	1.297

Somit ist für phosphorsaures Kalium:

das mittlere Verhältniss der isotonischen Concentrationen 1.320,

der isotonische Coëfficient . . . . . . 3.96.

VIII. *Weinsaures Kalium.*

$K_2 C_4 H_4 O_6$. Aequivalentzahl 113. Mol.-Gew. 226.

Die Lösung wurde durch vorsichtiges Mischen äquivalenter Mengen von reiner krystallisirter Weinsäure und reinem kohlensaurem Kalium, und Entfernung der Kohlensäure durch Erwärmung dargestellt. Die krystallisirte Säure hinterliess beim Verbrennen pro Gramm 1 Milligr. Asche; ein Aequivalent, in Milligrammen ausgedrückt (0.075 Gr.) erforderte zur Neutralisation genau 10.0 CC einer zehntelnormalen Kalilösung.

	Weinsaures Kalium.						Kalisalpeter.						
	0.18	0.21	0.24	0.27	0.30	Ind. Conc.	0.12	0.14	0.16	0.18	0.20	0.22	Ind. Conc.
Centranthus ruber			+	+	—	0.285			+	+	=	—	0.20
Nr. II			+	+	—	0.285			+	+	—	—	0.19
Nr. III			+	=	—	0.27			+	+	—	—	0.19
Nr. IV			+	+	—	0.285							
Rudbeckia triloba.			+	+	—	0.285			+	=	—	—	0.18
Nr. II			+	+	—	0.285			+	+	=	—	0.20
Nr. III			=	—	—	0.24			+	+	—	—	0.19
Nr. IV			+	—	—	0.255							
Impatiens Roylii. .	+	+	=	—		0.24	+	+	—	—			0.15
Nr. II	+	=	—	—		0.21	+	+	—	—			0.15
Nr. III	+	+	=	—		0.24	+	=	—	—			0.14
Nr. IV	+	+	+	—		0.255	+	+	—	—			0.15
	0.30	0.33	0.36	0.39	0.42		0.20	0.22	0.24	0.26	0.28		
Cephalaria leucantha	+	+	—			0.345	+	+	=	—			0.24
Nr. II	+	+	+	—		0.375		+	—	—	—		0.23
Nr. III	+	+	+	=		0.39		+	=	—	—		0.24
Nr. IV		+	+	=	—	0.39		+	=	—	—		0.24

Die mittleren indifferenten Concentrationen für die einzelnen Arten enthalten also pro 100 Liter die folgenden Anzahlen Molecüle:

Centranthus ruber	$28\frac{1}{8} \times \frac{1}{2}$	$19\frac{1}{3}$	1.375
Rudbeckia triloba	$26\frac{5}{8} \times \frac{1}{2}$	19	1.427
Impatiens Roylii	$23\frac{5}{8} \times \frac{1}{2}$	$14\frac{3}{4}$	1.248
Cephalaria leucantha	$37\frac{1}{2} \times \frac{1}{2}$	$23\frac{3}{4}$	1.267

Somit ist für weinsaures Kalium:

das mittlere Verhältniss der isotonischen Concentrationen 1.329,

der isotonische Coëfficient . . . . . 3.99.

IX. *Aepfelsaures Kalium.*

$K_2 C_4 H_4 O_5$. Aequivalentzahl 105. Mol.-Gew. 210.

Das Salz wurde in derselben Weise bereitet, wie in dem vorhergehenden Versuche. Ueber die Reinheit der Aepfelsäure vergleiche man Abschnitt II, § 2, Seite 169. Als Versuchsmaterial dienten bereits früher erwähnte Arten.

	Aepfelsaures Kalium.								Kalisalpeter.							
	0.18	0.21	0.24	0.27	0.30	0.33	0.36	Ind. Conc.	0.12	0.14	0.16	0.18	0.20	0.22	0.24	Ind. Conc.
Centranthus ruber. . .			+	+	—	—		0.285			+	+	—	—		0.19
Nr. II			+	+	—	—		9.285			+	+	=	—		0.20
Nr. III			+	+	=	—		0.30			+	+	=	—		0.20
Nr. IV			+	+	—	—		0.285								
Rudbeckia triloba. . .			+	+	=	—		0.30			+	+	—	—		0.19
Nr. II			+	=	—	—		0.27			+	+	—	—		0.19
Nr. III			+	+	—	—		0.285			+	+	—	—		0.19
Nr. IV			+	—	—	—		0.255								
Cephalaria leucantha.					+	—	—	0.315				+	+	=		0.22
Nr. II				+	+	—	—	0.315				+	+	+	—	0.23
Nr. III				+	+	=	—	0.33					+	+	—	0.23
Nr. IV				+	+	+	—	0.345					+	+	=	0.24
Impatiens Roylii . . .	+	+	—					0.225	+	+	—	—				0.15
Nr. II	+	=	—	—				0.21	+	—	—	—				0.13
Nr. III	+	+	=	—				0.24	+	=	+	+				0.17
									+	+	—	—				0.15

Die mittleren indifferenten Concentrationen für die einzelnen Arten enthalten also pro 100 Liter die folgenden Anzahlen Molecüle:

	Aepfelsaures Kalium.	KNO_3	Verhältniss.
Centranthus ruber	28⅞ × ½	19	1.362
Rudbeckia triloba	27¾ × ½	19	1.369
Cephalaria leucantha	32⅝ × ½	23	1.410
Impatiens Roylii	22½ × ½	15	1.33

Somit ist für äpfelsaures Kalium:
das mittlere Verhältniss der isotonischen Concentrationen 1.3685,
der isotonische Coëfficient . . . . 4.11.

X. *Citronensaures Kalium.*

$K_3 C_6 H_6 O_7$. Aequivalentzahl 102. Mol.-Gew. 306.

Für die Bereitung des Salzes und der Lösungen vergleiche man im zweiten Abschnitt § 2, Versuch, VI., S. 163.

Als Versuchsmaterial dienten jugendliche Sprosse bereits früher erwähnter Arten.

	Citronensaures Kalium.							Kalisalpeter.						
	0.24	0.27	0.30	0.33	0.36	0.39	Ind. Conc.	0.12	0.14	C 15	0.18	0.20	0.22	Ind. Conc.
Centranthus ruber .				+	+	—	0.375		+	+	+	—		0.19
Nr. II				+	+	—	0.375			+	+	—	—	0.19
Nr. III				+	+	—	0.375			+	+	+	—	0.21
Nr. IV				+	—	—	0.345			+	+	—	—	0.19
Rudbeckia triloba .				+	=	—	0.36		+	+	+	—		0.19
Nr. II				=	—	—	0.33		+	+	+	=		0.20
Nr. III				+	=	—	0.36			+	+	—	—	0.19
Nr. IV				+	=	—	0.36			+	+	—	—	0.19
Impatiens Roylii . .	+	+	—	—			0.285	+	=	—	—			0.14
Nr. II	+	+	=	—			0.30	+	—	—	—			0.13
Nr. III	=	—	—	—			0.24	+	+	—				0.15
Nr. IV	+	=	—	—			0.27	+	—	—				0.13

Die mittleren indifferenten Concentrationen für die einzelnen Arten enthalten also pro 100 Liter die folgenden Anzahlen Molecüle:

	Citronensaures Kalium.	KNO_3	Verhältniss,
Centranthus ruber	$36^3/_4 \times {}^1/_3$	$19^1/_2$	1.591
Rudbeckia triloba	$35^1/_4 \times {}^1/_3$	$19^1/_4$	1.638
Impatiens Roylii	$27^3/_8 \times {}^1/_3$	$13^3/_4$	1.507

Somit ist für citronensaures Kalium:
das mittlere Verhältniss der isotonischen Concentrationen 1.579,
der isotonische Coëfficient . . . . . 4.74.

XI. *Aepfelsaures Magnesium.*

$Mg\,C_4\,H_4\,O_5$. Aequivalentzahl 78. Mol.-Gew. 156.

Die gesättigte Lösung des äpfelsauren Magnesiums entzieht den wachsenden Zellen kein Wasser; diese nehmen solches im Gegentheil aus ihr auf, und Kreuzstreifen erhöhen in ihr also ihre Krümmung. Aus diesem Grunde habe ich für die Versuche übersättigte Lösungen hergestellt; warm bereitet halten sie sich nach Abkühlung auf die Temperatur des Zimmers einige Stunden, häufig sogar einige Tage lang.

Die geringe Diffusibilität des Salzes erlaubt eine Bestimmung der indifferenten Concentration nur für die beiden empfindlichsten Arten, welche mir jetzt zur Verfügung standen.

	Aepfelsaures Magnesium.					Kalisalpeter.				
	0.64	0.68	0.72	0.76	Ind. Conc.	0.16	0.18	0.20	0.22	Ind. Conc.
Centranthus ruber. . .	+	+	=	—	0.72	+	=	—	—	0.18
Nr. II	+	+	—	—	0.70	+	=	—	—	0.18
Nr. III	+	=	—	—	0.68	+	=	—	—	0.18
Nr. IV	+	+	—	—	0.70					
Rudbeckia triloba. . .	+	—	—	—	0.66	+	+	=	—	0.20
Nr. II	+	=	—	—	0.68	+	+	—	—	0.19
Nr. III	+	—	—	—	0.66	+	+	—	—	0.19
Nr. IV	+	+	—	—	0.70					

Die mittleren indifferenten Concentrationen für die einzelnen Arten enthalten also pro 100 Liter die folgenden Anzahlen Molecüle:

	Aepfelsaures Magnesium.	KNO_3	Verhältniss.
Centranthus ruber	70 × ½	18	0.514
Rudbeckia triloba	67½ × ½	19⅓	0.573

Somit ist für äpfelsaures Magnesium:

das mittlere Verhältniss der isotonischen Concentrationen 0.543,

der isotonische Coëfficient . . . . 1.63.

Aepfelsaures Calcium ist so wenig in Wasser löslich, dass es in concentrirter Lösung noch eine starke Aufrollung der Sprossstreifen gestattet, ich konnte aus diesem Grunde den isotonischen

Coëfficienten für dieses Salz nicht ermitteln. Ich habe aber eine Lösung von äquivalenten Theilen äpfelsauren Calciums und äpfelsauren Kaliums bereitet und mit dieser einige Versuche ausgeführt. Obgleich sie keine sehr genauen Resultate lieferten, zeigten sie doch, dass der isotonische Coëfficient des Kalksalzes nicht beträchtlich von dem des Magnesiumsalzes verschieden sein kann.

XII. *Schwefelsaures Magnesium.*

$MgSO_4$. Aaquivalentzahl 60. Mol.-Gew. 120.
Krystalle: $MgSO_4 + 7\,H_2O$. Mol.-Gew. 246.
Die Versuche wurden mit dem reinen Salze des Handels angestellt.

Ausser mehrfach erwähnten Arten dienten zu den Versuchen noch die Stiele jugendlicher Blüthenschirme von *Levisticum officinale* und *Oenanthe silaifolia.*

	Schwefelsaures Magnesium.					Kalisalpeter.				
	0.50	0.55	0.60	0.65	Ind. Conc.	0.14	0.16	0.18	0.20	Ind. Conc.
Centranthus ruber . .	+	=	—	—	0.55	+	+	—	—	0.17
Nr. II	+	+	—	—	0.575	+	=	—	—	0.16
Nr. III	+	+	—	—	0.575	+	+	—		0.17
Levisticum officinale.		=	—	—	0.55		+	—	—	0.17
Nr. II	+	=	—	—	0.55	+	+	—	—	0.17
Nr. III	+	=	—	—	0.55	+	=	—	—	0.16
Oenanthe silaifolia. .		+	=	—	0.60		+	—	—	0.17
Nr. II		+	—		0.575	+	+	—	—	0.17
Nr. III	+	+	=	—	0.60	+	+	—	—	0.17
Nr. IV	+	=	—	—	0.55					
	0.35	0.40	0.45	0.50		0.10	0.12	0.14	0.16	
Impatiens Roylii. . . .	+	+	—	—	0.425		=	—	—	0.12
Nr. II	+	=	—	—	0.40	+	+	—	—	0.13
Nr. III	+	+	—	—	0.425	+	=	—	—	0.12

Die mittleren indifferenten Concentrationen für die einzelnen Arten enthalten also pro 100 Liter die folgenden Anzahlen Molecüle:

	Schwefelsaures Magnesium.	KNO_3	Verhältniss.
Centranthus ruber	$56^2/_3 \times {}^1/_2$	$16^2/_3$	0.588
Levisticum officinale	$55 \times {}^1/_2$	$16^2/_3$	0.606

	Schwefelsaures Magnesium.	KNO_3	Verhältniss.
Oenanthe silaifolia	$58^{1}/_{8} \times {}^{1}/_{2}$	17	0.585
Impatiens Roylii	$41^{2}/_{3} \times {}^{1}/_{2}$	$12^{1}/_{3}$	0.592

Somit ist für schwefelsaures Magnesium:
das mittlere Verhältniss der isotonischen Concentrationen 0.593,
der isotonische Coëfficient . . . . . 1.78.

XIII. *Citronensaures Magnesium.*

$Mg_3 (C_6 H_5 O_7)_2$. Aequivalentzahl 75. Mol.-Gew. 450.

Ebenso wie beim äpfelsauren Magnesium mussten auch hier übersättigte Lösungen benutzt werden. Das Salz wurde in derselben Weise wie jenes dargestellt; die Lösungen aus der ursprünglichen Lösung durch Verdünnung auf ein bestimmtes Volum bereitet. Die sehr geringe Diffusibilität liess nur eine Bestimmung mit *Rudbeckia triloba* zu.

	Citronensaures Magnesium.					Kalisalpeter.				
	0.92	0.96	1.00	1.04	Ind. Conc.	0.16	0.18	0.20	0.22	Ind. Conc.
Rudbeckia triloba . . .	+	+	—	—	0.98	+	+	=	—	0.20
Nr. II	+	+	—	—	0.98	+	+	—	—	0.19
Nr. III	+	=	—	—	0.96	+	+	—	—	0.19
Nr. IV	+	+	+	—	1.02					

Die mittleren indifferenten Concentrationen für die beiden Salze enthalten also pro 100 Liter die folgenden Anzahlen Molecüle:

	Citronensaures Magnesium	KNO_3	Verhältniss.
Rudbeckia triloba	$97^{1}/_{2} \times {}^{1}/_{6}$	$19^{1}/_{3}$	1.177

Somit ist für citronensaures Magnesium:
das Verhältniss der isotonischen Concentrationen 1.177,
der isotonische Coëfficient . . . . . . 3.53.

Abschnitt IV. **Resultate.**

§ 1. *Grundzüge der Lehre von den isotonischen Coëfficienten.*

Nachdem wir in den vorhergehenden Abschnitten die physiologischen Methoden kennen lernten, mittelst deren man die Affinität

gelöster Verbindungen zu Wasser in verdünnten Lösungen messen kann, und wir diese Messung für die wichtigsten im pflanzlichen Zellsaft verbreiteten Körper systematisch durchgeführt haben, wollen wir jetzt die gewonnenen Zahlen zusammenstellen und untersuchen, welche Resultate sich aus ihnen ableiten lassen. Zu diesem Zwecke ordnen wir sie zunächst in eine Tabelle zusammen und bringen sie dabei in die drei Gruppen der metallfreien organischen Verbindungen, der Salze der Alkalimetalle und der Salze der Erdalkalien unter. In jeder Gruppe folgen die einzelnen Glieder nach der aufsteigenden Reihe der isotonischen Coëfficienten aufeinander. Die Anordnung ist also eine rein empirische; sie lässt aber auf dem ersten Blick das Gesetz der isotonischen Coëfficienten erkennen.

Wie in der Einleitung mitgetheilt wurde, sind die isotonischen Coëfficienten nicht nach Gewichtsprocenten der einzelnen Verbindungen, sondern auf Grammmolecüle berechnet. Die Zahlen der Tabelle weisen also die relative Affinität zu Wasser für je eine gleiche Anzahl von Molecülen ($H = 1$ Gramm) in demselben Lösungsvolum an.

Anmerkung zu der Tabelle. Die Zahlen der dritten Spalte sind sämmtlich nach der vergleichenden plasmolytischen Methode gewonnen, mit alleiniger Ausnahme derjeniger für Rohrzucker, Chlorkalium und schwefelsaures Kalium. Die beiden letzteren Salze sind nach der plasmolytischen Transportmethode untersucht; für den Rohrzucker is das Mittel aus den nach beiden Methoden ausgeführten Bestimmungen eingetragen. Vergl. S. 184, 180 und 182. Oxalsäure, Traubenzucker und äpfelsaurer Kalk sind nicht in die Tabelle aufgenommen, man vergleiche für diese S. 170, 202 resp. 211, und für den Werth der mit diesen erhaltenen Resultate S. 220.

Uebersichtstabelle der isotonischen Coëfficienten.

Stoffe.	Formeln.	Isot. Coëff. nach der plasmolyt. Methode	Isot. Coëff. nach der Methode d. Gewebesp.
I. Gruppe.			
Invertzucker	$C_{12}H_{22}O_{11}$	1.88	1.84
Rohrzucker	$C_6H_{12}O_6$	1.88	1.84
Aepfelsäure	$C_4H_6O_5$	1.98	
Weinsäure	$C_4H_6O_6$	2.02	
Citronensäure	$C_6H_8O_7$	2.02	

Stoffe.	Formeln.	Isot. Coëff.	
		nach der plasmolyt. Methode.	nach der Methode d. Gewebesp.
II. Gruppe A.			
Salpetersaures Natrium	$Na NO_3$	3.0	
Chlorkalium.	$K Cl$	3.0	2.84
Chlornatrium	$Na Cl$		3.05
Chlorammonium	$NH_4 Cl$	3.0	
Essigsaures Kalium	$K C_2 H_3 O_4$	3.0	
Doppeltsaures citronens. Kalium	$K H_2 C_6 H_5 O_7$	3.05	
II. Gruppe B.			
Oxalsaures Kalium	$K_2 C_2 O_4$		3.93
Schwefelsaures Kalium	$K_2 SO_4$	3.9	3.92
Phosphorsaures Kalium	$K_2 HPO_4$		3.96
Weinsaures Kalium	$K_2 C_4 H_4 O_6$		3.99
Aepfelsaures Kalium	$K_2 C_4 H_4 O_5$		4.11
Einfachsaures citronens. Kalium .	$K_2 HC_6 H_5 O_7$	4.08	
II. Gruppe C.			
Citronensaures Kalium	$K_3 C_6 H_5 O_7$	5.01	4.74
III. Gruppe A.			
Aepfelsaures Magnesium	$Mg C_4 H_5 O_5$	1.88	1.63
Schwefelsaures Magnesium . . .	$Mg SO_4$	1.96	1.78
III. Gruppe B.			
Citronensaures Magnesium . . .	$Mg_3 (C_6 H_5 O_7)_2$	3.88	3.53
Chlormagnesium	$Mg Cl_2$	4.33	
Chlorcalcium	$Ca Cl_2$	4.33	

Bevor wir dazu schreiten, die sich aus dieser Tabelle ergebenden Resultate einzeln vorzuführen, haben wir zunächst die nach den beiden befolgten Methoden erhaltenen Zahlen mit einander zu vergleichen. Dabei ergiebt sich, dass wo nach beiden mit derselben Verbindung gearbeitet wurde, die Resultate eine befriedigende Uebereinstimmung zeigen. Solches ist auch für oxalsaures und weinsaures Kalium der Fall, wie Seite 180 hervorgehoben wurde. Ferner zeigen auch die zu derselben Gruppe gehörigen Verbindungen nahezu dieselben Zahlen, auch wenn diese nach verschiedenen Methoden bestimmt wurden, und es darf also als experimentell gesichert betrachtet werden, dass die isotonischen Coëfficienten von der Art der angewandten Methoden der Hauptsache nach unabhängig sind, dass sie also für sämmtliche Turgorprocesse die gleiche Gültigkeit besitzen. Es war dieses Resultat vorauszusehen, da ja

unsere Coëfficienten, ihrer Natur nach, keine physiologischen sind, sondern eine rein physikalische Bedeutung haben, d. h. von den Eigenschaften des Lebens durchaus unabhängig sind.

Die erwähnte Uebereinstimmung unterliegt aber in den drei letzten Gruppen einer Beschränkung, indem hier die Zahlen weiter auseinander weichen, als den möglichen Beobachtungsfehlern entspricht. In dem ersten Abschnitte S. 148 und in § 1 des dritten Abschnittes S. 196 habe ich bereits darauf hingewiesen, dass nach der Methode der Gewebespannung, bei diesen langsam diffundirenden Verbindungen, wegen der kurzen Dauer der Versuche, die isotonischen Coëfficienten etwas zu niedrig gefunden werden müssen, und thatsächlich ist die Abweichung hier immer eine solche, wie nach jenen Erörterungen zu erwarten war.

Bei unseren ferneren Betrachtungen werden wir also für diese Gruppen nur die nach der plasmolytischen Methode erhaltenen Zahlen in Rechnung bringen müssen, und dasselbe werden wir auch auf die beiden Zuckerarten anwenden können. Glücklicherweise wird hierdurch aber nicht die Natur unserer Folgerungen, sondern nur der Grad ihrer Genauigkeit beeinflusst.

Aus unserer Tabelle ergeben sich nun drei empirische Gesetze, welche innerhalb der Grenzen unserer Untersuchung die isotonische Coëfficienten der einzelnen Körper bestimmen.

I. *Gesetz. Die isotonischen Coëfficienten haben für die Glieder einer und derselben Gruppe nahezu denselben Werth.*

Die Gruppen sind äusserst natürliche, und werden theils von der Natur und der Anzahl der in den Verbindungen enthaltenen Metallatome, theils von der Anzahl der Säureatome bestimmt. Sie lassen sich, wie folgt unterscheiden (vergl. S. 138):

		Min.	Max.
1. Gruppe.	Organische metallfreie Verbindungen	1.88	2.02
2. Gruppe.	Salze der Alkalimetalle mit je einem Atom Alkali im Molecül	3.0	3.05
3. Gruppe.	Salze der Alkalimetalle mit je zwei Atomen Alkali im Molecül . . .	3.9	4.11
4. Gruppe.	Salze der Alkalimetalle mit je drei Atomen Akali im Molecül	5.0	
5. Gruppe.	Salze der Erdalkalien mit je einer Atomgruppe der Säure im Molecül .	1.88	1.96
6. Gruppe.	Salze der Erdalkalien mit je zwei Atomgruppen der Säure im Molecül.	3.88	4.33

Jeder Gruppe habe ich den niedrigsten und den höchsten Coëffi-

cienten beigefügt; wo dieser für dieselbe Verbindung nach beiden Methoden bestimmt wurde, wählte ich stets das Resultat der plasmolytischen Methode.

Zu diesen Gruppen möchte ich noch folgendes bemerken:

Es ist sehr wahrscheinlich, dass auch die übrigen, von mir nicht untersuchten Substanzen, welche der Definition nach in eine dieser Gruppen gehören, den ihr entsprechenden isotonischen Coëfficienten haben, dass das Gesetz also für diese Gruppen allgemeine Gültigkeit hat. Ich finde in dem Gang meiner Untersuchung eine sehr starke Stütze für diese Meinung. Die Zahlen der zweiten Methode sind nach rein empirischen Versuchen, jedesmal ohne theoretische Berechnung gewonnen; die der plasmolytischen Methode aber fast alle nach dem Gesetze im Voraus berechnet. In jedem einzelnen Falle wurde die Berechnung durch die Erfahrung bestätigt, es wird dieses also auch wohl in anderen Fällen zu erwarten sein.

Die Natur der Gruppen betreffend ist zunächst zu bemerken, dass die Salze organischer und anorganischer, sowie diejenigen starker und schwacher Säuren sich in dieser Beziehung gleich verhalten. Dasselbe gilt von den neutralen und sauren Salzen der mehrbasischen Säuren. Hervorzuheben sind in dieser Beziehung als ein lehrreiches Beispiel die Verbindungen von Citronensäure und Kalium:

		Isot. Coëff.
Freie Citronensäure	$H_3\ C_6H_5O_7$	2.02
Doppeltsaures citronens. Kalium	$KH_2\ C_6H_5O_7$	3.05
Einfachsaures citronens. Kalium	$K_2H\ C_6H_5O_7$	4.08
Neutrales citronens. Kalium . .	$K_3\ C_6H_5O_7$	5.01

Unter den organischen Verbindungen verhalten sich die Säuren wie die neutralen Kohlenhydrate, und dasselbe gilt nach einigen weiteren Versuchen auch für stickstoffhaltige organische Verbindungen (wie z. B. Asparagin).

2. *Gesetz. Die isotonischen Coëfficienten der verschiedenen chemischen Gruppen verhalten sich nahezu zu einander wie 2 : 3 : 4 : 5.*

Berechnen wir für jede Gruppe den mittleren isotonischen Coëfficienten, so finden wir:

Gruppe.	Beispiel.	Mittl. isot. Coëff.	Ders. abgerundet.
I.	Zucker	1.96	2
II.	KNO_3	3.02	3
III.	K_2SO_4	4.00	4

Gruppe.	Beispiel.	Mittl. isot. Coëff.	Ders. abgerundet.
IV.	$K_3 C_6 H_5 O_7$	5.01	5
V.	$Mg SO_4$	1.92	2
VI.	$Mg Cl_2$	4.18	4

In der letzten Spalte habe ich die isotonischen Coëfficienten in abgerundeten Zahlen gegeben, und es zeigt sich, dass nur in den beiden letzteren Gruppen (Salze der Erdkalien), die Abweichung der empirischen Mittelzahl von der abgerundeten mehr als 0,05 beträgt.

Eine Vergleichung dieser abgerundeten Mittelzahlen mit den Coëfficienten der einzelnen Verbindungen, oder mit den Seite 216 genannten Maximis und Minimis führt ferner zu der Ueberzeugung, dass letztere von den ersteren nur selten um mehr als 0.12 abweichen. Grössere Abweichungen zeigen nämlich nur das Chlorcalcium und das Chlormagnesium.

Es fragt sich nun, ob diese Abweichungen thatsächlichen Differenzen zwischen den einzelnen Gliedern der Gruppe entsprechen oder nicht? Mit anderen Worten, ob das Bestehen solcher Differenzen durch sie bewiesen wird. Dabei lassen wir zunächst die beiden genannten Chloride ausser Betracht. Um nun hierüber zu entscheiden, brauchen wir einfach festzustellen, ob diese Unterschiede ausserhalb der Beobachtungsfehler fallen, oder anderenfalls durch diese bedingt sein können. Letzteres ist nun ohne Zweifel der Fall, weil die Differenzen zwischen den einzelnen Versuchen, welche zur Ermittelung des isotonischen Coëfficienten derselben Verbindung nach derselben Methode angestellt wurden, im Allgemeinen von derselben Ordnung sind, wie die Unterschiede zwischen den Mittelzahlen der verschiedenen, zu derselben Gruppe gehörigen Stoffe. Nicht selten waren jene sogar etwas grösser als letztere.

Die Mittelzahlen selbst müssen also häufig mit Fehlern behaftet sein, denen Differenzen von 0.01 bis 0.12 wohl zugeschrieben werden dürfen, und unsere Versuche beweisen somit wohl, dass die isotonischen Coëfficienten für die Glieder einer Gruppe nahezu dieselben sind; sie entscheiden aber nicht, ob zwischen ihnen geringe Differenzen vorhanden sind.

Diesen Betrachtungen gegenüber ist es selbstverständlich, dass in den isotonischen Coëfficienten die zweite Decimalstelle jedenfalls kein Vertrauen verdient, und dass also Abrundung auf höchstens Eine Decimalstelle vorgeschrieben ist. Ich gehe noch einen Schritt weiter, und runde die Coëfficienten auf ganze Zahlen ab, und sage also:

Die isotonischen Coëfficienten der von mir untersuchten Verbindungen sind nahezu gleich 2, 3, 4 und 5. Ihre experimentell gefundenen Werthe weichen von diesen Zahlen nicht um mehr als 0.12 ab. Ausnahme machen nur die Chloride der Erdalkalien, deren Abweichung + 0.33 beträgt.

Für die folgenden Betrachtungen, sowie für die Anwendung unserer Zahlen auf die Analyse der Turgorkraft, reicht dieser Grad von Genauigkeit völlig aus, und werden wir also stets die isotonischen Coëfficienten einfach als ganze Zahlen behandeln. Die Abweichung der beiden genannten Chloride darf allerdings nicht vernachlässigt werden, jedoch spielen diese Verbindungen bei der Analyse der Turgorkraft keine Rolle.

Es wäre von grossem Interesse den Bestimmungen der isotonischen Coëfficienten eine grössere Genauigkeit zu geben, sei es durch Ableitung der Mittelzahlen aus grösseren Versuchsreihen, durch Verbesserung der Methode oder durch Anwendung völlig neuer Methoden.

Bei manchen Verbindungen würde auch wohl eine noch grössere Reinheit der Lösungen erreicht werden können, als mir bisher möglich war. Es ist meine feste Ueberzeugung, dass durch derart fortgesetzte Studien die Abweichungen der einzelnen Stoffe von den Mittelzahlen der Gruppen stets geringer gefunden werden werden, und dass unsere abgerundeten Werthe mit dem experimentellen Befunde noch genauer übereinstimmen werden, als solches augenblicklich der Fall ist.

Die Abweichung der Chloride aber wird sich voraussichtlich auch bei weiteren Versuchen bestätigen; ich vermuthe, dass sie von der Concentration der angewandten Flüssigkeiten abhängt, und bei bedeutend stärkerer Verdünnung ebenfalls verschwinden würde. Zwei Gründe lassen sich für diese Vermuthung anführen. Erstens darf man im Allgemeinen erwarten, dass die hier studirten Beziehungen um so klarer hervortreten werden, je verdünnter die untersuchten Lösungen sind. 1) Zweitens habe ich den Grad der Plasmolyse für stärkere Lösungen dieser beiden Salze mit den entsprechenden Lösungen des Kalisalpeters verglichen. Nach unseren Coëfficienten (4 für $Ca\,Cl_2$ und $Mg\,Cl_2$; 3 für KNO_3) berechnet, müssten Lösungen von 1.5 Aeq. dieser beiden Chloride isotonisch sein mit 1 Aeq. Kalisalpeter; thatsächlich übten sie auf Spirogyrazellen, welche sich zu diesem Versuch besonders eigneten,

1) Vielleicht stehen manche der bei den übrigen Verbindungen beobachteten Abweichungen gleichfalls unter dem Einflusse der Concentration.

eine auffallend viel stärkere wasserentziehende Wirkung aus. Auch ist nicht zu vergessen, dass sehr starke Lösungen dieser beiden Salze an der Luft Wasserdunst aufnehmen.

Giebt man die Richtigkeit der Meinung, dass die beobachteten Abweichungen vorwiegend von Versuchsfehlern herrühren, zu, so leuchtet ein, dass die Bestimmung der isotonischen Coëfficienten für bis jetzt noch nicht untersuchte Verbindungen auch in Zweifelsfällen eine äusserst einfache wird, indem es nunmehr nur noch darauf ankommt zu entscheiden, zu welcher Gruppe eine Verbindung gehört. Hat man aus der chemischen Formel den wahrscheinlichsten isotonischen Coëfficienten berechnet, so hat man nur Lösungen herzustellen, welche voraussichtlich mit 0.10—0.16 Aeq. Kalisalpeter isotonisch sind, und diese in üblicher Weise experimentell mit den Salpeterlösungen zu vergleichen. Schon der erste Versuch entscheidet völlig über die Richtigkeit der Berechnung, und wenn die Verbindung im Handel auch nur annähernd rein zu haben ist, so kann bei einer derartigen Entscheidung eine weitere Reinigung häufig ganz umgangen werden. Wenige Stunden genügen dann zur Ermittelung eines neuen Coëfficienten. In dieser Weise können meine nebenbei gemachten Bestimmungen mit Oxalsäure (S. 170), Traubenzucker (S. 202) und äpfelsaurem Kalk (S. 211) als experimentelle Belege für deren isotonische Coëfficienten: 2, 2 und 4 angenommen werden, wenngleich sie aus verschiedenen Gründen nicht so genaue Resultate lieferten, wie die Hauptversuche mit den in der Tabelle S. 215 angeführten Stoffen.

3. *Gesetz. Jede Säure und jedes Metall hat in allen Verbindungen denselben partiellen isotonischen Coëfficienten; der Coëfficient eines Salzes ist gleich der Summe dieser partiellen Coëfficienten für die constituirenden Bestandtheile.*

Diese partiellen isotonischen Coëfficienten sind:

für jede Atomgruppe einer Säure	2,
für jedes Atom eines Alkalimetalles	1,
für jedes Atom eines Erdalkalimetalles	0.

Diese Zahlen ergeben sich aus einer Vergleichung der isotonischen Coëfficienten der einzelnen Gruppen; aus ihnen lässt sich umgekehrt der Coëfficient eines jeden beliebigen Salzes berechnen, z. B.:

$$KCl = 1 + 2 = 3.$$
$$K_2SO_4 = 2 \times 1 + 2 = 4.$$
$$K_3C_6H_5O_7 = 3 \times 1 + 2 = 5.$$
$$MgSO_4 = 0 + 2 = 2.$$
$$MgCl_2 = 0 + 2 \times 2 = 4.$$

Das Gesetz gilt auch für saure Salze:

$$K_2 H . C_6 H_5 O_7 = 2 \times 1 + 2 = 4.$$

So berechnet sich z. B. für saures oxalsaures Kalium:

$$K H C_2 O_4 = 1 + 2 = 3.$$

So würde man für neutrale Kaliumsalze vier- und fünfbasischer Säuren die isotonischen Coëfficienten 6 und 7 finden, u. s. w.

Die untersuchten organischen Säuren haben im freien Zustande denselben isotonischen Coëfficienten (2), wie in ihren Verbindungen. Dasselbe gilt offenbar nicht von den Basen der Erdalkalien, da die Affinität z. B. des Calciumhydrates zu Wasser unmöglich = 0 sein kann. Hieraus folgt, dass bei der Verbindung organischer Säuren mit gelösten Basen der Erdalkalien ein Verlust an Affinität zu Wasser stattfinden muss. Es ist mir wahrscheinlich, dass die stärkeren anorganischen Säuren und Basen gleichfalls im freien Zustande einen höheren isotonischen Coëfficienten haben werden, als in ihren Salzen, und dass also bei ihrem Zusammentreten zu Salzen ein entsprechender, vielleicht grosser Verlust an Affinität für das Lösungsmittel stattfindet.

Durch Mangel an einer Indicatorpflanze, welche stärkere Säuren und freie Alkalien in Lösungen von 0.1—0.2 Aeq. während einiger Stunden erträgt, war es mir bis jetzt nicht möglich, diese theoretisch so wichtige Frage nach meiner Methode zu beantworten.

Aus dem dritten Gesetze folgt ferner:

Bei den kreuzweisen Umsetzungen von Salzen in Lösungen ändert sich die totale Anziehung zu Wasser nicht. Diese Regel gilt für neutrale Salze im Allgemeinen, ferner für die sauren organischsauren Salze und die freien organischen Säuren. Sie ist in der Praxis deshalb von Interesse, weil es durch sie völlig gleichgültig wird, wie die Säuren mit den Basen in einem Gemische verbunden sind. Es reicht hin, die Quantität der einzelnen Säuren und Basen kennen zu lernen, um daraus die Affinität des Ganzen zum Wasser berechnen zu können.

Ich lasse jetzt einige aus unserer Tabelle (S. 215) abgeleitete, ideale Beispiele zur Erläuterung dieser Regel folgen:

1) $$K Cl + Na NO_3 = KNO_3 + Na Cl$$
$$3 + 3 = 3 + 3$$

2) $$2 K Cl + Mg SO_4 = Mg Cl_2 + K_2 SO_4$$
$$2 \times 3 + 2 = 4 + 4$$

3) $$K_2 C_4 H_4 O_5 \;^{1)} + Mg SO_4 = Mg C_4 H_4 O_5 + K_2 SO_4$$
$$4 + 2 = 2 + 4$$

1) Aepfelsaures Kalium.

4) $2\,K_3\,C_6\,H_5\,O_7$[1] $+ 3\,Mg\,SO_4 = Mg_3\,(C_6\,H_5\,O_7)_2 + 3\,K_2\,SO_4$

$2 \times 5 \quad + \quad 3 \times 2 \quad = \quad 4 \quad + \quad 3 \times 4$

Dasselbe findet man, nach unseren Gesetzen, für die Entstehung von saurem oxalsaurem Kalium, aus dem neutralen Salze und der freien Oxalsäure:

5) $K_2\,C_2\,O_4 + H_2\,C_2\,O_4 = 2\,K\,H\,C_2\,O_4$

$4 \quad + \quad 2 \quad = \quad 2 \times 3$

Diesen Fällen gegenüber kann bei tiefer eingreifenden chemischen Umwandlungen eine Zu- oder Abnahme der Affinität zu Wasser beobachtet werden. So z. B. wenn Rohrzucker in Invertzucker gespalten wird:

$$C_{12}\,H_{22}\,O_{11} + H_2O = 2\;C_6\,H_{12}\,O_6$$

$$2 \quad < \quad 2 \times 2.$$

§ 2. *Ueber die Beziehungen zwischen der Gefrierpunkts-Erniedrigung und dem isotonischen Coëfficienten von Verbindungen in wässrigen Lösungen.*

Bis jetzt haben wir die Affinität gelöster Substanzen zum Lösungswasser nach physiologischen Methoden bestimmt. Da diese Affinitäten aber physikalische Eigenschaften der betreffenden Verbindungen sind, so wollen wir jetzt ihre Beziehungen zu einigen physikalischen Processen näher ins Auge fassen.

Die Bedürfnisse der physiologischen Erforschung der Turgorkraft zwangen mich früher, mich nach gründlich bekannten physikalischen Erscheinungen umzusehen, welche wenigstens eine annähernde Vergleichung der Affinität verschiedener gelöster Substanzen für Wasser erlauben würden. Der herrschenden Meinung folgend, glaubte ich früher eine solche in den Diffusionsgesetzen gefunden zu haben, und aus der verschiedenen Diffusiongeschwindigkeit der einzelnen Stoffe auf ihre Anziehung zum Wasser schliessen zu dürfen.[2] Meine jetzigen Untersuchungen leh-

1) Citronensaures Kalium.

2) *Opera I S. 511.* Die dort ausgesprochene Hypothese, dass die organischen Säuren eine hervorragende Rolle bei den Turgorprocessen spielen dürften, beruhte auf die bedeutende Diffusionsgeschwindigkeit der Säuren, und auf die daraus abgeleitete vermeintliche grosse Affinität dieser Substanzen zum Wasser. Da letztere Voraussetzung sich durch die Tabelle auf S. 215 als unrichtig herausgestellt hat, kann auch die Hypothese, soweit sie darauf basirt war, nicht mehr aufrecht gehalten werden, obgleich sie sich sonst gut bewährt hat, denn ich verdanke ihr die Veranlassung zur ganzen vorliegenden Untersuchung. Vergleiche übrigens über den Antheil der Pflanzensäuren am Turgor den zweiten Theil, Abschnitt III, und *Opera II S. 107.*

ren aber, dass diese Meinung unbegründet ist, indem die Geschwindigkeit der Diffusion in vielen Fällen bei Weitem nicht parallel geht mit den isotonischen Coëfficienten. Sie hängt ja auch nur zum Theil von der Affinität des diffundirenden Stoffes zum Wasser ab, zu einem wesentlichen Theile wird sie von dem Reibungswiderstande bei der Bewegung der diffundirenden Molecüle bestimmt.[1]) Die Gesetze der Diffusion geben also kein zuverlässiges Mittel zur Beurtheilung der uns hier beschäftigenden Probleme.

Schon besser verhält es sich mit den Erscheinungen der Osmose. Nach Graham's Vorgang muss die Osmose als ein doppelter Process betrachtet werden, nämlich als bestehend aus einer reinen Diffusion und aus der Anziehung der Lösung als Ganzes zum jenseits der Membran liegenden Wasser.[2]) Jene würde den Gesetzen der Diffusion folgen, diese so zu berechnen sein, als ob die Membran für die gelöste Substanz undurchlässig wäre; d. h. als ob nur eine einseitige Bewegung des Wassers stattfände, wie solche bei der Aufnahme von Wasser seitens der lebendigen Zellen thatsächlich vorkommt. Der Schwierigkeit, diese beiden Theile gehörig zu trennen, dürfte es zuzuschreiben sein, dass unsere Ansichten über osmotische Vorgänge noch so sehr der Klärung bedürfen. Je geringer nun die Durchlässigkeit der Membran für den gelösten Körper ist, um so mehr muss die Diffusion zurücktreten, und der turgorähnliche Process das Uebergewicht erlangen. Den höchsten Grad in dieser Richtung erreicht die Erscheinung in den lebendigen Pflanzenzellen, und es ist dies gerade der Grund wesshalb diese sich so vorzüglich zur Ermittelung der isotonischen Coëfficienten eignen. Ihnen am nächsten kommen die Niederschlagsmembranen, deren merkwürdige Eigenschaften in der letzten Zeit von Traube hervorgehoben, und von Pfeffer zu seinen osmotischen Untersuchungen verwandt wurden.[3]) Mit solchen Membranen angestellte Versuche dürften mit den unserigen im Wesentlichen übereinstimmende Resultate erwarten lassen, und

1) Man vergleiche hierzu die von Hannay für die Microrheose bestimmten Zahlen (Philos. Transactions 1879, S. 275) mit Graham's aequidiffusiven Gruppen (Philos. Trans. 1850, 1851).

2) Philos. Transactions 1861. On liquid diffusion applied to analysis, § 8.

3) Traube: Archiv f. Anatomie und Physiologie, 1867, S. 87; Bot. Ztg. 1875, S. 56. Vergleiche ferner de Vries: Sur la perméabilité des membranes précipités. *Opera I S. 487*, und Pfeffer: Osmotische Untersuchungen, Leipzig 1877.

dass eine solche Erwartung nicht unbegründet ist, wird sich im nächsten Paragraphen zeigen.

Auf die Anziehung gelöster Stoffe zu ihrem Lösungsmittel beruhen ferner beispielsweise die Erscheinungen der Verminderung der Dampfspannung des Wassers durch darin gelöste Stoffe, die Erniedrigung des Dichtigkeitsmaximums von Lösungen, und die Erniedrigung der Temperatur des Gefrierens. Nach den Untersuchungen von Güldberg [1] über die Beziehungen zwischen der ersteren und letzteren Erscheinung, besteht bei den verschiedenen Salzen zwischen diesen beiden dieselbe Beziehung, und ist diese somit von der Natur des Salzes unabhängig. Aehnliches gilt nach de Coppet von den Beziehungen zwischen den beiden letztgenannten Erscheinungen. [2] Wir haben hier also drei verschiedene Aeusserungen derAffinität gelöster Stoffe zu Wasser, denen die plasmolytischen Erscheinungen als ein vierter Fall zur Seite zu stellen sind.

Wie in den partiellen isotonischen Coëfficienten besitzen die Metalle und Säuregruppen der Salze gleichfalls in Bezug auf andere Eigenschaften, wie z. B. die Diffusionsgeschwindigkeit [3], die Microrheose [4] und die Densität der Lösungen gewisse constante Factoren, welche sie in allen ihren Verbindungen behalten. Es ist hier aber nicht der Ort, diese Analogien weiter auszuführen.

Von den namhaft gemachten Processen sind nun die Gefrierpunktserniedrigungen der Lösungen weitaus am besten erforscht, und zwar so vollständig, dass eine eingehende Vergleichung mit unseren Gesetzen der isotonischen Coëfficienten möglich ist. Sehen wir zu, inwiefern beide mit einander übereinstimmen.

Es ist bekannt, dass Lösungen im Allgemeinen bei einer niedrigeren Temperatur erstarren, als reines Wasser. Bei der Erstarrung geht nur das Wasser in die feste Form über, und trennt sich von der zurückbleibenden und deshalb concentrirteren Lösung, wie man in schöner Weise sehen kann, wenn man gefärbte Lösungen gefrieren lässt. Die Temperatur des Gefrierens einer Lösung liegt

---

1) Güldberg: Sur la loi des points de congélation des solutions salines. Comptes rendus, 1870, Tome I, p. 1349.

2) de Coppet: Recherches sur la température de congélation des dissolutions salines. Annales de Chimie et de Physique, 4. Serie, T. XXIII. p. 366; T. XXV, p. 502; T. XXVI, p. 98 (1871—72).

3) Graham: Philos. Transact. 1850, 1851.

4) Hannay: Philos. Transact. 1879.

5) C. Bender: Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft 1883, XVI, S. 2556.

nun um so tiefer unter dem Nullpunkt, je concentrirter die Lösung ist, und zwar ist die Erniedrigung des Gefrierpunktes innerhalb gewisser Grenzen jener Concentration proportional.

Beziehungen zwischen verschiedenen gelösten Substanzen findet man nur, wenn man die Concentrationen nicht nach Gewichtsprocenten, sondern nach den Moleculargewichten der einzelnen Verbindungen berechnet. Es war de Coppet, der dieses zuerst that, und der dadurch aus früheren und eigenen Untersuchungen bestimmte Regeln ableitete. Er führte den Begriff der atomistischen oder molecularen Gefrierpunktserniedrigungen ein. Diese weisen an, um wie viel Grade Celsius der Gefrierpunkt des Wassers erniedrigt wird, wenn auf 100 Gramm so viele Gramme Substanz aufgelöst werden, wie die Zahl ausdrückt, welche wir das Moleculargewicht nennen. Oder, wie man es auszudrücken pflegt, wenn in 100 Gramm Wasser ein Grammmolecül des betreffenden Stoffes aufgelöst wird. Wenn fernerhin von Gefrierpunktserniedrigungen die Rede ist, soll stets diese Form gemeint werden.

Als wichtigstes Resultat stellt de Coppet [1]) den Satz auf, dass für Verbindungen, welche zu derselben chemischen Gruppe gehören, die moleculare Gefrierpunktserniedrigung nahezu denselben Werth hat. Dasselbe Gesetz fanden wir für die isotonischen Coëfficienten, und die Vergleichung der von de Coppet gegebenen Tabelle mit der meinigen lehrt, dass die Gruppen in beiden Fällen in sehr übereinstimmender Weise begrenzt sind. Den einzigen auffallenden Unterschied bilden die Halogensalze der Alkalimetalle, welche bei de Coppet von den Nitraten derselben Metalle getrennt sind, wie wir sogleich näher ausführen werden.

So einfache Beziehungen zwischen den einzelnen Gruppen, wie sie unsere isotonischen Coëfficienten bilden, lassen sich aus de Coppet's Versuchen nicht ableiten. Der Umstand, dass er mit weit höheren Concentrationen, vielfach sogar mit übersättigten Lösungen arbeitete, dürfte der Auffindung solcher Beziehungen ungünstig gewesen sein. Dessen ungeachtet bestehen für diejenigen Stoffe, welche sowohl von Ihm als von mir untersucht sind, auffallend dieselben Verhältnisse zwischen den Gefrierpunktserniedrigungen wie zwischen den isotonischen Coëfficienten. Eine Ausnahme bilden nur die Chloride. Aus folgender kleinen Zusammenstellung,

1) de Coppet: l. c., T. XXVI, p. 112.

welche ich der Uebersichtstabelle de Coppet's entnehme 1), wird man diese Uebereinstimmung ersehen.

Salze.	Moleculare Gefrierp.-Erniedr.	Isot. Coëff.	Verhältniss.
Salpetersaures Kalium	27.0	3	9
Salpetersaures Natrium	26.4	3	8.8
Schwefelsaures Kalium	35.0—39.0	4	8.75—9.75
Schwefelsaures Magnesium	18.0	2	9

Und für die Chloride:

Salze	Moleculare Gefrierp.-Erniedr.	Isot. Coëff.	Verhältniss.
Chlorkalium	33.6	3	11.2
Chlornatrium	31.4—33.8	3	10.47—11.27
Chlorammonium	34.8	3	11.6
Chlorcalcium	43.2	4.33	10.0

Andere auch von mir untersuchte Stoffe enthält de Coppet's Tabelle nicht.

Es bestehen also für die Chloride unter sich, und für die übrigen Salze unter sich,zwischen den einzelnen Verbindungen in beiden Fällen nahezu dieselben Beziehungen. Weshalb die Chloride eine so merkwürdige Ausnahme machen, muss einstweilen dahingestellt bleiben. Doch ist daran zu erinnern, dass auch bei meinen Versuchen die Chloride der Erdalcalien eine Abweichung zeigten, welche zwar kleiner ist als in de Coppet's Experimenten, jedoch in demselben Sinne, und dass Gründe vorliegen, hier einen Einfluss der Concentration zu vermuthen (vergl. S. 219).

In den letzten Jahren hat Raoult ausgedehnte und sehr sorgfältige Untersuchungen über die Gefrierpunktserniedrigung von Lösungen angestellt. Seinen vorläufigen Mittheilungen in den Comptes rendus von 1880—1883 2) lassen sich wichtige Thatsachen zur Vergleichung mit den isotonischen Coëfficienten entnehmen.

De Coppet hatte nur anorganische Verbindungen untersucht. Ein Hauptverdienst Raoult's bietet daher sein Studium der organischen Substanzen. Für diese fand er ganz allgemein die Regel, dass die Gefrierpunktserniedrigungen von Lösungen, welche im Liter dieselbe Anzahl Grammmolecüle besitzen, für sämmtliche organische Körper, unabhängig von der Grösse ihrer Molecüle

1) de Coppet: l. c. 4. Serie, T. XXVI, S. 110 und 111; die Tabelle ist reproducirt in Naumann's Handbuch der allgemeinen Chemie S. 458.

2) Raoult: Comptes rendus, T. 90, p. 865, T. 94, p. 1517, T. 95, p. 187, 1030. T. 96, p. 560, 1653; und Ann. Chim. Phys., 5. Série, T. 28, p. 133—144. Janv. 1883.

oder ihren sonstigen Eigenschaften annähernd denselben Werth haben. Für alle liegt die moleculare Gefrierpunktserniedrigung zwischen etwa 17 und 20, und ist im Mittel aus allen Versuchen = 18.5.[1])

Auch die isotonischen Coëfficienten sind für alle von mir untersuchten organischen Verbindungen dieselben; und die Uebereinstimmung ist hier also eine vollständige.

In einem späteren Aufsatze[2]) theilte Raoult mit, dass das schwefelsaure Magnesium dieselbe moleculare Gefrierpunktserniedrigung habe, wie die organischen Verbindungen; es hat wie jene, den isotonischen Coëfficienten 2. Für die meisten übrigen Salze wechselt dagegen jener Werth zwischen 33 und 43, gegen 18.5 für die organischen Stoffe. Die einzelnen Zahlen hat Raoult bis jetzt nicht veröffentlicht, und ich muss mich also darauf beschränken, hervorzuheben, dass die isotonischen Coëfficienten im Allgemeinen dasselbe Verhältniss zeigen. Für organische Stoffe und schwefelsaure Magnesia = 2, sind sie für die meisten übrigen Salze 3 oder 4. Wie in de Coppet's Versuchen, so zeigten auch bei Raoult die Chloride auffallend höhere Zahlen.

Derselbe Forscher hat auch die Gefrierpunktserniedrigung der Alkalien und der starken anorganischen Säuren bestimmt. Da diese Substanzen bis jetzt von den Versuchen nach meiner Methode ausgeschlossen sind, so wollen wir seine Resultate kurz mittheilen.[3]) Die schwachen anorganischen Säuren haben dieselbe Gefrierpunktserniedrigung wie die organischen Säuren und die organischen Substanzen überhaupt; Salzsäure, Phosphorsäure, Salpetersäure und Schwefelsäure weisen aber nahezu den doppelten Werth auf. Dasselbe gilt für die fixen Alkalien. Nehmen wir nun an, dass auch bei diesen Stoffen die isotonischen Coëfficienten sich verhalten wie die Gefrierpunktserniedrigungen, so würde daraus hervorgehen, dass diese Coëfficienten grösser sind als jene, welche sie in ihren Salzen besitzen. Da dasselbe offenbar von den Erdalkalien gilt (S. 220), so scheint mir diese Folgerung unabweisbar. Sie lehrt aber, dass bei der Entstehung von Salzen durch die Neutralisation von starken Säuren oder starken Alkalien die Affinität des entstandenen Salzes für Wasser bedeutend kleiner ist als die Summe jener Affinitäten seiner einzelnen Componenten.

---

1) l. c. Comptes rendus 1882, T. 94, p. 1517.
2) l. c. Comptes rendus 1882, T. 95, p. 1030.
3) Raoult: Comptes rendus, T. 96, p. 1653 (1883).

Auch wenn Salze schwacher Säuren durch aequivalente Mengen starker Säuren zersetzt werden, muss also eine Aenderung der Summe der isotonischen Coëfficienten eintreten, wie solches für die Gefrierpunktserniedrigungen auch thatsächlich stattfindet. [1])

Fassen wir das Ergebniss dieser Betrachtungen kurz zusammen, so können wir sagen, dass in weitaus den meisten und den wichtigsten Beziehungen eine volle Uebereinstimmung zwischen den Gesetzen der isotonischen Coëfficienten und denen der Gefrierpunktserniedrigungen obwaltet. Letztere bieten augenblicklich noch eine gewisse Zahl von Ausnahmen [2]) während von den ersteren bis jetzt keine wesentlichen Ausnahmen beobachtet wurden. Im Gegentheil scheinen die von Raoult beobachteten abnormalen Fälle sich unseren Regeln sehr wohl zu fügen. Ob diese letzteren in ihrem ganzen Umfange auch für die Gefrierpunktserniedrigungen gelten werden, müssen spätere Untersuchungen lehren.

§ 3. *Berechnung der osmotischen Druckkraft mittelst der isotonischen Coëfficienten.*

Für eine klare Einsicht in die mannigfachen Erscheinungen im Leben der Pflanzen, in denen der Turgor eine Rolle spielt, ist es oft vom höchsten Interesse, nicht nur den relativen Werth der Anziehungen der einzelnen gelösten Stoffe zum Wasser, sondern wenigstens annähernd auch deren absolute Grösse zu kennen. Sachs und Andere haben wiederholt Thatsachen hervorgehoben, aus denen hervorging, dass die in den Pflanzen thätigen osmotischen Druckkräfte ganz bedeutende sind und nicht selten einen Werth von mehreren Atmosphären erreichen. Am eingehendsten wurde dieser Gegenstand von Pfeffer in seinen so sehr bedeutungsvollen Osmotischen Untersuchungen behandelt. Er zeigte, dass krystalloide Verbindungen, in Concentrationen von nur wenigen Procenten, wie sie auch im Zellsaft häufig vorkommen, einen osmotischen Druck von einigen Atmosphären herbeiführen können, und dass diese Kräfte zur Erklärung der in den lebenden Pflanzenzellen beobachteten Turgorkraft im Allgemeinen ausreichen.

Eine Methode zur Berechnung der Turgorkraft aus der chemischen Zusammensetzung der Zellsäfte, oder aus der auf plasmo-

---

1) Raoult: Comptes rendus, T. 96, p. 560.

2) „Un certain nombre d'anomalies", Raoult, Comptes rendus, T. 95, p. 1030.

lytischem Wege ermittelten wasseranziehenden Kraft des lebendigen Zellinhaltes, lässt sich aber auf die bis jetzt veröffentlichten Untersuchungen nicht gründen, wie Pfeffer in seinem Handbuche der Pflanzenphysiologie (Bd. I, S. 54, 1881) ausführlich betont. Wie wichtig aber eine solche Methode wäre, auch wenn sie nur annähernd genaue Resultate geben könnte, lässt sich aus den gründlichen Auseinandersetzungen des genannten Forschers (1. c.) entnehmen und braucht hier deshalb nicht weiter hervorgehoben zu werden.

Diesem Bedürfnisse kann aber jetzt, nachdem die relative Grösse der osmotischen Leistungsfähigkeit für eine Reihe von Verbindungen in ihren isotonischen Coëfficienten bekannt geworden ist, wenigstens zum grossen Theile abgeholfen werden. Denn es handelt sich jetzt nur noch darum, für Einen beliebigen Körper, dessen isotonischer Coëfficient ermittelt wurde, die osmotische Druckkraft kennen zu lernen, um daraus den nämlichen Werth für alle anderen von mir untersuchten Stoffe durch eine einfache Berechnung ableiten zu können.

Indem ich mir diese Aufgabe für eine spätere experimentelle Untersuchung vorbehalte, scheint es mir doch dem Interesse der Sache entsprechend, hier aus den allerdings spärlichen Daten, welche sich in dieser Richtung schon jetzt verwerthen lassen, den fraglichen Werth wenigstens annähernd zu berechnen. Dem bisherigen Gange unserer Untersuchung gemäss, werden wir auch hier den Kalisalpeter als Ausgangspunkt wählen, und die vorhandenen Angaben also zur Ermittelung der osmotischen Druckkraft einer zehntelnormalen Lösung dieses Salzes benutzen. Ist diese bekannt, so lässt sich daraus, wie gesagt, dieselbe Grösse für eine lange Reihe der physiologisch wichtigen Stoffe mittelst unseren Coëfficienten berechnen.[1])

Zu einer solchen vorläufigen Berechnung stehen uns zwei principiell verschiedene Wege offen. Einerseits die Vergleichung der in turgescirenden Zellen obwaltenden Spannkraft mit der Wasseranziehenden Kraft, dem Salpeterwerthe (vergl. S. 141 der Einleitung), des Zellsaftes. Ich nenne diese Methode die physiologische; sie arbeitet mit lebenden, in hohem Grade für gelöste Stoffe impermeable Membranen. Andererseits aber die bekannten Versu-

---

1) Ich bemerke ausdrücklich, dass es sich hier nicht um die Grösse der Anziehung zwischen den einzelnen Molecülen, sondern um die der ganzen Lösung zum Wasser handelt.

che Pfeffer's mit künstlichen, sogenannten Niederschlagsmembranen. Die für die erstere Methode bis jetzt vorhandenen Angaben sind äusserst spärliche und unvollständige; die Versuche Pfeffer's sind sehr genaue und so zahlreiche, dass sie ohne Weiteres zur Lösung unserer Aufgabe hinreichen würden, wenn nicht die Niederschlagsmembranen eine, obgleich geringe, doch immerhin bei diesen Versuchen bedeutungsvolle Permeabilität für die osmotischen Stoffe besässen, wie bald des Näheren ausgeführt werden wird.

Aus diesem Grunde müssen wir beide Wege einschlagen und ihre Resultate mit einander vergleichen.

Nach plasmolytischer Methode lässt sich eine Antwort auf unsere Frage in verschiedener Weise finden. Auf S. 483, *Opera I* meiner Untersuchungen über die mechanischen Ursachen der Zellstreckung habe ich die Kraft, mit der die Zellhäute wachsender Blüthenstiele von *Plantago amplexicaulis* durch den Turgor ausgedehnt sind, auf 6 Atmosphären bestimmt. Solche Blüthenstiele verkürzen sich aber, wenn man sie in eine Lösung von 2.5 pCt. Kalisalpeter bringt, sehr merklich, nach Seite 395 der erwähnten Schrift um 3.0 pCt. Die wasseranziehende Kraft des Zellinhaltes war also geringer als die einer Salpeterlösung von 2.5 pCt. Somit ist die osmotische Kraft dieser letzteren Lösung grösser als 6 Atm., und also die einer Lösung von 1 pCt., oder von 0,1 Aeq. (= 1.01 pCt.) grösser als 2.4 Atm. Vergleicht man die S. 394 und 395 mitgetheilten kleinen Tabellen miteinander, so wird man zugeben, dass die genannten Organe sich auch wohl in 2.0 pCt. Salpeter verkürzt hätten, und dass die Leistungsfähigkeit einer Lösung von 0.1 Aeq. KNO_3 somit wohl grösser als 3 Atm. sein wird.

Eine andere Betrachtung führt zu demselben Resultat. In jungen Blüthenstielen von *Thrincia hispida* fand ich die elastische Spannung der Zellhäute zu 4½, in denen von *Froelichia floridana* zu 3, in den oben erwähnten Stielen von *Plantago* zu 6 Atmosphären. In mehreren anderen Versuchen erhielt ich ähnliche Zahlen (l. c. S. 483). Also im Mittel für wachsende Sprossgipfel 4.7 Atm., eine Zahl, welche aus mehreren Gründen etwas zu niedrig ausfallen musste. Im zweiten Theil der vorliegenden Abhandlung werden wir den mittleren Salpeterwerth der Zellsäfte wachsender Zellen zu 0.2 finden. Nehmen wir nun diese Mittelzahl auch für die 1877 untersuchten Sprosse an, so wäre die Anziehungskraft einer Salpeterlösung von 0.2 Aeq. gleich der osmotischen Druckkraft der Zellsäfte jener Sprossgipfel, also mindestens = 4.7 Atm. Somit

für 0.1 Aeq. KNO_3 mindestens 2.35 Atm. Obgleich auch diese Zahl wenig Anspruch auf Genauigkeit macht, so stimmt sie doch mit der zuerst berechneten hinreichend genau überein, um als eine Bestätigung betrachtet werden zu dürfen.

Ambronn bestimmte die Turgorkraft wachsender Sprosse von *Foeniculum officinale* zu 9—12 Atmosphären. [1]) Unter Berücksichtigung dieser Zahlen würde die obige Erörterung einen etwas höheren Werth liefern. [2])

Als erste Annäherung finden wir somit, dass die osmotische Leistungsfähigkeit einer Lösung von 0.1 Aeq. Kalisalpeter nahezu 3 Atmosphären, wahrscheinlich etwas mehr, aber wohl nicht das Doppelte, beträgt.

Auf physikalischem Wege hat Pfeffer die osmotische Druckkraft mehrerer Substanzen direct zu ermitteln gesucht. In seinen bereits citirten inhaltsreichen Osmotischen Untersuchungen bestimmte er die maximale Druckhöhe, welche 1 procentige Lösungen in osmotischen Apparaten zu erzeugen im Stande sind. Für die Beschreibung seiner bekannten Versuche verweise ich auf das Original [3]); die von ihm benutzten Membranen waren sogenannte Niederschlagsmembranen, welche wegen ihres hohen Filtrationswiderstandes unter allen bekannten Membranen zu diesen Versuchen am besten geeignet sind. Sie stehen bis jetzt nur dem lebendigen Protoplasma in dieser fundamentalen Eigenschaft nach. [4])

Auf höchst sinnreiche Weise verwandelte Pfeffer diese dünnen und zarten Häute in feste Membranen, welche einen Druck von mehreren Atmosphären ertragen konnten, indem er sie in kleine Thonzellen einlagerte und diese als Zellen seiner Osmometer ver-

---

1) Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XII, S. 531.

2) Während des Druckes erhielt ich einen Aufsatz von M. Westermaier aus den Berichten der deutschen Bot. Gesellsch. 1883, I, Heft 8, in welchem das Wassergewebe der Blätter von *Peperomia* untersucht wurde. Die Turgorkraft dieser Zellen betrug 3—4 Atm.; sie wurden durch 2 pCt. KNO_3 plasmolysirt. Auf meine Anfrage hatte Herr Dr. Westermaier die Gefälligkeit, mir brieflich mitzutheilen, dass die niedrigste zur Aufhebung des Turgors erforderliche Concentration zwischen 1.43 und 1.54 pCt. KNO_3 liegt. Danach würde die osmotische Leistungsfähigkeit einer Lösung von 0.1 Aeq. KNO_3 wenigstens 2—2.66 Atm. betragen. Diese mit erwachsenen Zellen und nach einer anderen Methode gemachte Bestimmung liefert also eine sehr gewünschte Bestätigung obiger Auseinandersetzungen.

3) Pfeffer: Osmotische Untersuchungen, Leipzig 1877, S. 112.

4) Vergleiche meinen Aufsatz: „Sur la perméabilité des membranes précipitées". *Opera I S. 487.*

wandte. Dabei konnte er aber die Nothwendigkeit des Zusatzes der Membranogenen (meist Ferrocyankalium und ein Kupfersalz) zu der inneren und äusseren Flüssigkeit nicht umgehen. Den durch die osmotische Kraft dieser beiden Körper entstehenden Fehler suchte er zu eliminiren, indem er sie in vorläufig ermittelten, mit annähernd gleicher Kraft Wasser anziehenden, nach unserer Bezeichnung also isotonischen Concentrationen anwandte.

Einen wesentlichen Einfluss auf die Beurtheilung der von Pfeffer erhaltenen Resultate hat der auch von ihm selbst wiederholt hervorgehobene Umstand, dass die Membranen keineswegs vollständig impermeabel sind für die angewandten Stoffe. Denn daraus geht hervor, dass diese in jenen Membranen nie ihre maximale Druckhöhe zu Stande bringen konnten und dass sie von diesen um so weiter entfernt bleiben mussten, je leichter sie durch die Membranen hindurchgepresst wurden. 1) Diesem Umstande ist es zuzuschreiben, dass die übrigens mit grosser Genauigkeit durchgeführten Versuche Pfeffer's bei der Berechnung auf dieselbe Einheit (0.1 Aeq. KNO_3) ziemlich abweichende Resultate ergeben.

Verlieren wir diese Bemerkungen nicht aus dem Auge, so werden wir im Stande sein, die Uebereinstimmung, welche die aus Pfeffer's Versuchen berechneten Zahlen mit den oben aus meinen eigenen Beobachtungen abgeleiteten aufweisen, richtig zu würdigen.

Ich komme jetzt zu den einzelnen Versuchen Pfeffer's, und fange mit denen an, welche mit 1 procentigen Lösungen des Kalisalpeters gemacht worden sind. Diese wären selbstverständlich die directesten und wichtigsten zur Beantwortung unserer Hauptfrage, wenn nicht gerade der Salpeter in merklicher Menge durch die Niederschlagsmembranen (Ferrocyankupfer) der angewandten Zellen diffundirte. 2) Da dem aber so ist, muss das Resultat zu klein gefunden werden.

Die Druckhöhe einer 1 procentigen Lösung von Salpeter fand nun unser Autor in zwei Versuchen zu 173.3—178.4 cm Quecksilber. 3) Nimmt man hieraus das Mittel zu 175.8, so findet man für jene Lösung, welche wir ohne merklichen Fehler = 0.1 Aeq.

1) „Allein die osmotische Leistung des Zuckers in Ferrocyankupfermembran ist ja auch kein Maass für dessen osmotische Leistung in einer Plasmamembran, welche thatsächlich höhere Werthe ergeben muss". Pfeffer, l. c. S. 179.

2) Pfeffer: Osm. Unters. S. 74. Handbuch der Physiologie I, S. 53.

3) l. c. S. 112.

(1.01 pCt.) stellen können, eine Druckkraft von etwa 2.3 Atmosphären. Die auffallende Uebereinstimmung dieser Zahl mit den beiden oben ermittelten (2.4 und 2.35) ist aber eine zufällige, da sie, wie jene, wesentlich hinter dem wirklichen Werthe der gesuchten Kraft zurückstehen muss, wie soeben bemerkt wurde.

Höhere Werthe giebt die Berechnung einiger weiteren, mit Kalisulfat und Rohrzucker durchgeführten Versuche, da in diesen eine weit geringere Diffusion durch die Niederschlagsmembranen stattfand.

Die 1 procentige Lösung des Kalisulfats entwickelte eine Druckkraft von 192.6 cm Quecksilber. Berechnen wir hieraus diese Kraft für eine Lösung von 0.1 Molecül im Liter, so finden wir $192,6 \times 1.74 = 335.1$ cm [1]. Nun ist 0.1 Molecül K_2SO_4 isotonisch mit $0.1 \times \frac{4}{3}$ Molecül Salpeter und es berechnet sich also die Druckhöhe für 0.1 Aeq. Salpeter zu 251.3 cm oder etwa 3.3 Atmosphären.

Für Rohrzucker fand Pfeffer (l. c. S. 79) in 16 Versuchen die osmotische Druckhöhe der 1 procentigen Lösung zu 47.1—53.8 cm Quecksilber. Dieses macht für eine Lösung, welche 0.1 Molecül im Liter enthält (= 3.42 pCt.), 160.1—184.0 cm. Da nun nach unseren Coëfficienten 0.1 Molecül Rohrzucker isotonisch ist mit $0.1 \times \frac{2}{3}$ Molecül Salpeter, so berechnet sich die Druckhöhe für 0.1 Aeq. Salpeter zu 240.1—276.0 cm, oder etwa 3.2—3.6 Atm. Im Mittel findet sich somit 3.4 Atm. oder nahezu dieselbe Zahl wie beim Kalisulfat.

Zu ähnlichen Resultaten führen noch einige weitere Versuche Pfeffer's, zu deren genauer Berechnung mir aber die erforderlichen Daten fehlen.

Vergleichen wir alle auf so sehr verschiedenen Wegen gefundenen Zahlen mit einander, so sehen wir, dass die physiologische und die physikalische Methode eine so grosse Uebereinstimmung in ihren Resultaten aufweisen, wie man kaum hätte erwarten dürfen. Daraus aber dürfen wir entnehmen, dass unser Ergebniss wenigstens nicht sehr weit von der Wahrheit entfernt ist, und als erste Annäherung so lange benutzt werden darf, bis genauere Un-

---

1) Bei dieser und der folgenden Berechnung setze ich Proportionalität zwischen Concentration und osmotischer Leistung voraus. Wenn auch eine solche Annahme nach Pfeffer nicht völlig gültig ist, führt sie doch hier in das Endresultat keinen beachtenswerthen Fehler ein.

tersuchungen einen besser begründeten Werth an seine Stelle setzen werden.

Die gefundenen Werthe schwanken zwischen 2.3 und 3.6 Atm. und wir werden also, um eine runde Zahl zu wählen, *die osmotische Druckkraft einer Lösung von 0.1 Aeq. Kalisalpeter vorläufig auf drei Atmosphären stellen dürfen.* Den mitgetheilten Erörterungen gemäss dürfen wir ferner annehmen, dass diese Zahl eher zu klein als zu hoch gegriffen ist.

Der isotonische Coëfficient des Kalisalpeters ist 3, und es folgt somit, dass die Einheit unserer Coëfficienten (wenn man H = 1 Gramm pro 10 Liter setzt), nahezu einer Atmosphäre entspricht. Mit Hülfe dieser Zahl berechnet sich z. B. die osmotische Kraft einer zehntelnormalen Lösung von Oxalsäure auf etwa Eine Atmosphäre (0.1 Aeq. = ½ Molecül; isoton. Coëff. 2).

Zum Schlusse wiederhole ich, dass ich die vorstehenden Erörterungen nur als vorläufige betrachte, und es mir zur Aufgabe gestellt habe, den gesuchten Werth durch besondere Experimente direct zu ermitteln. Für unseren jetzigen Zweck, die Analyse der Turgorkraft, bedürfen wir, wie man im zweiten Theile sehen wird, der genauen Kenntniss dieses Werthes nicht.

§ 4. *Anwendung der isotonischen Coëfficienten bei physiologischen Versuchen.*

Im zweiten Theile dieses Aufsatzes werden wir die Anwendung unserer Coëfficienten auf die Analyse der Turgorkraft, d. h. also auf die Eigenschaften der in den lebendigen Zellen enthaltenen Zellsäfte ausführlich behandeln. Ich möchte aber an dieser Stelle darauf hinweisen, dass auch bei anderen physiologischen Fragen und Versuchen unsere Coëfficienten von Nutzen sein können. Ich beschränke mich dabei auf die physiologische Seite; inwiefern das Studium der physikalischen Erscheinungen, welche durch die Anziehung der gelösten Stoffe zu ihrem Lösungswasser bedingt werden, und namentlich die Erforschung der osmotischen Vorgänge davon Nutzen ziehen kann, will ich an dieser Stelle nicht erörtern.

Drei Fälle möchte ich hier beispielsweise hervorheben. Es sind dies die Bestimmung der Concentration von Nährlösungen, von Lösungen zu plasmolytischen Versuchen, und von Flüssigkeiten, in denen die Bewegungen niederer Organismen, oder diejenigen des Protoplasma beobachtet werden sollen.

In Wasserculturen darf die Concentration der Nährlösung er-

fahrungsgemäss einen gewissen Grad (meist zu 0.3 pCt. angegeben) nicht überschreiten, da sonst die Entwickelung der Pflanzen zu sehr retardirt wird. Offenbar muss diese Grenze aber je nach der Zusammensetzung der Lösung wechseln, weil z. B. Ein Molecül Kalisalpeter (101 Gramm) mit anderthalbfach grösserer Kraft Wasser anzieht wie ein Molecül schwefelsaure Magnesia (120 Gramm des wasserfreien oder 246 Gramm des krystallisirten Salzes). 101 Gramm KNO_3 sind also in dieser Beziehung 180 resp. 369 Gramm des letztgenannten Salzes gleich zu stellen. In Versuchen, in denen Ein Salz durch ein anderes ersetzt wird, sollte solches also stets nach isotonischen Verhältnissen geschehen, da sonst die Anziehung der ganzen Lösung zum Wasser, und damit ihre retardirende Wirkung auf das Wachsthum verändert wird.

Kommt es darauf an, den Einfluss verschiedener Salze, sei es in reinen, sei es in gemischten Lösungen, auf die Vegetation mit einander zu vergleichen, so ist stets darauf Rücksicht zu nehmen, dass diese Salze, neben ihrer zu untersuchenden specifischen Wirkung, auch stets wasserentziehend wirken, oder doch die Aufnahme des Wassers seitens der Pflanze herabsetzen. Nur wenn sie in isotonischen Concentrationen angewandt werden, ist dieser letztere Einfluss für ungleichnamige Salze gleich gross, und nur dann lässt sich mit Sicherheit darüber entscheiden, ob ihnen noch eine specifische Wirkung zukommt. So verhält es sich z. B., wie man sogleich einsehen wird, mit dem Einflusse der von den Wurzeln aufgenommenen Lösungen auf die Wasserbewegung und auf die Verdunstung in den Blättern. Insbesondere hebe ich jene Versuche hervor, in denen die Geschwindigkeit des Wachsthums von Wurzeln in Lösungen verschiedener Salze und verschiedener Concentration studirt wird. Wirken die Salze dabei nur kraft ihrer Anziehung zum Wasser, so muss das Wachsthum in isotonischen Concentrationen der verschiedensten Stoffe dieselbe Geschwindigkeit zeigen. Sollte letzteres aber nicht der Fall sein, so wäre noch eine andere Wirkung der Salze zu vermuthen. Hier liegt ein interessantes Feld für weitere Untersuchungen offen. Auch die Frage der Beziehung zwischen Concentration der Lösung und Geschwindigkeit des Wurzelwachsthums harrt noch eines eingehenden Studiums.

Bei plasmolytischen Studien ist häufig eine Anwendung verschiedener Lösungen von Wichtigkeit. Namentlich ist es häufig wichtig, die Wirkung von Stoffen von verschiedenem Diffusionsvermögen, wie z. B. Salpeter und Rohrzucker, auf denselben Process zu studiren. Der Grad ihrer Concentration lässt sich im Vor-

aus aus den isotonischen Coëfficienten berechnen, wenn er für die Erscheinung, die man hervorrufen will, bei Einer Substanz bekannt ist. Zu bemerken ist aber, dass solches nur für verdünnte Lösungen zulässig ist, z. B. für Lösungen von wenigen Procenten, oder solchen, welche mit höchstens 0.3 Aequivalent oder 3 pCt. Salpeter isotonisch sind. Bei Anwendung stärkerer Lösungen beobachtet man, wie zu erwarten, nicht selten bedeutende Abweichungen. Solches ist namentlich beim Chlorcalcium der Fall.

Die Bewegungen mancher niederer Organismen, z. B. gewisser Bacterien, und die Protoplasmaströmungen mancher Zellen finden bekanntlich in sehr verdünnten Salzlösungen ungestört statt, während destillirtes Wasser schädlich auf sie einwirkt. Vorschriftsmässig pflegt man eine ¾ procentige Lösung von Kochsalz zu benutzen. Es ist zu erwarten, dass andere Salze, Zucker, Glycerin u. s. w. in isotonischen Concentrationen denselben Effect haben werden.

Diese Beispiele mögen genügen, um die Aufmerksamkeit auf die Concentration von Nährlösungen und dem Leben unschädlichen Reagentien zu lenken, und namentlich auf die Vermeidung von Ungleichheiten, welche durch die ungleiche wasseranziehende Kraft der verschiedenen gelösten Stoffe entstehen könnten. Sie lehren aber gleichfalls wie man in unseren Coëfficienten ein einfaches Mittel hat, um die numerischen Resultate älterer einschlägiger Versuche richtig zu beurtheilen.

Sie lehren ferner, dass eine klare Einsicht in manche in Lösungen vorsichgehende Processe erst dann erlangt wird, wenn man die Concentrationen ungleichnamiger Stoffe, nicht, wie bisher üblich, nach Gewichtsprocenten ausdrückt, sondern im Gegentheil derart, dass man die Anzahl der Grammmolecüle im Liter angiebt. Es lässt sich dann wenigstens die allgemeinste und wichtigste Eigenschaft der Lösungen, der Grad, in welchem sie den lebenden Zellen Wasser entziehen, oder ihnen die Aufnahme von solchem gestatten, in directer und übersichtlicher Weise beurtheilen. Ich möchte für alle physiologischen Versuche diese Weise Concentrationen anzugeben, auf's Dringlichste empfehlen.

Um aber bei der Berechnung aller älteren Versuche, in denen die Concentration in Gewichtsprocenten angegeben ist, die Vergleichung der Wirkung verschiedener Stoffe zu erleichtern, füge ich zum Schlusse eine Tabelle bei, welche für die von mir untersuchten Stoffe die Zahlen enthält, welche bei einer solchen Vergleichung erforderlich sind. Sie umfasst für diese Verbindungen

den Salpeterwerth einer einprocentigen Lösung, und die in Gewichtsprocenten angegebene Concentration einer mit 0.1 Aeq. KNO_3 isotonischen Lösung. Diese letzteren, in der letzten Spalte verzeichneten Werthe, stellen also isotonische Concentrationen aller jener Verbindungen vor. In die Tabelle sind ferner die Daten aufgenommen, welche zur Berechnung jener Grössen dienen; es sind dies die chemischen Formeln, die Aequivalentzahlen und Molecular-Gewichte, und endlich die isotonischen Coëfficienten. In einigen Fällen, wo die krystallinischen Stoffe Krystallwasser enthalten, habe ich diese unter den wasserfreien Verbindungen aufgeführt, weil diese Verbindungen gewöhnlich im krystallinischen Zustande abgewogen und aufgelöst werden.

Ueber die Berechnung selbst sei Folgendes bemerkt. Die Salpeterwerthe der einprocentigen Lösungen sind $= 1/3 \times 10 \times \frac{\text{Isot. Coëff.}}{\text{Molec. Gew.}}$, und weisen den Salpeterwerth direct in Aequivalenten an. Da das Molecular-Gewicht des Kalisalpeters 101 ist, eine Lösung von 0,1 Aeq. also 1,01 pCt. enthält, braucht man die Zahlen nur mit 10 zu multipliciren, um den Salpeterwerth in Procentgehalten von Kalisalpeter mit hinreichender Genauigkeit zu finden. Die Concentrationen der mit 0.1 Aeq. = 1.01 pCt. Kalisalpeter isotonischen Lösungen, berechnen sich nach der Formel $\frac{\text{Molec. Gew.}}{\text{Isot. Coëff.}} \times 0.03$; sie sind das Zehnfache der reciproken Werthe der Zahlen der vorletzten Spalte.

Tabelle zur Berechnung der Salpeterwerte und der isotonischen Concentrationen nach Gewichtsprocenten.

Stoffe.	Formeln.	Aeq.-Zahl	Molec.-Gewicht	Isot. Coëff.	Salpeterwerth d. 1proc. Lösung	Concentration der mit 0.1 Aeq. KNO_3 isot. Lös.
Rohrzucker	$C_{12}H_{22}O_{11}$	—	342	2	0.0195	5.13 %
Invertzucker	$C_6H_{12}O_6$	—	180	2	0.037	2.70
Citronensäure	$C_6H_8O_7$	64	192	2	0.035	2.88
dito Krystalle . . .	$C_6H_8O_7 + H_2O$	70	210	2	0.032	3.15
Aepfelsäure	$C_4H_6O_5$	67	134	2	0.050	2.01
Weinsäure.	$C_4H_6O_6$	75	150	2	0.044	2.25
Oxalsäure	$C_2H_2O_4$	45	90	2	0.074	1.35
dito Krystalle . . .	$C_2H_2O_4 + 2H_2O$	63	126	2	0.053	1.89

Stoffe.	Formeln.	Aeq.-Zahl	Molec.-Gewicht	Isot. Coëff.	Salpeterwerth d. 1proc. Lösung	Concentration der mit 0.1 Aeq. KNO_3 isot. Lös.
Salpetersaures Kalium .	KNO_3	101	101	3	0.099	1.01 %
Salpetersaures Natrium .	$Na NO_3$	85	85	3	0.118	0.85
Chlorkalium	$K Cl$	74.5	74.5	3	0.134	0.745
Chlornatrium.	$Na Cl$	58.5	58.5	3	0.171	0.585
Chlorammonium . . .	$NH_4 Cl$	53.5	53.5	3	0.187	0.535
Essigsaures Kalium . .	$K C_2 H_3 O_2$	98	98	3	0.102	0.98
Saures citronens. Kalium	$KH_2 C_6 H_5 O_7$	43.3	130	3	0.077	1.30
Oxalsaures Kalium . .	$K_2 C_2 O_4$	83	166	4	0.080	1.245
dito Krystalle . . .	$K_2 C_2 O_4 + H_2O$	92	184	4	0.072	1.38
Schwefelsaures Kalium .	$K_2 SO_4$	87	174	4	0.077	1.305
Phosphorsaures Kalium.	$K_2 HPO_4$	58	174	4	0.077	1.305
Weinsaures Kalium . .	$K_2 C_4 H_4 O_6$	113	226	4	0.059	1.695
Aepfelsaures Kalium . .	$K_2 C_4 H_4 O_5$	105	210	4	0.063	1.575
Saures citronens. Kalium	$K_2H C_6 H_5 O_7$	89.3	268	4	0.050	2.01
Citronensaures Kalium .	$K_3 C_6 H_5 O_7$	102	306	5	0.054	1.836
dito Krystalle . . .	$K_3C_6H_5O_7+H_2O$	108	324	5	0.051	1.944
Aepfelsaures Magnesium	$Mg C_4 H_4 O_5$	78	156	2	0.043	2.34
Schwefels. Magnesium .	$Mg SO_4$	60	120	2	0.056	1.80
dito Krystalle. . . .	$Mg SO_4 + 7 H_2O$	123	246	2	0.027	3.69
Citronens. Magnesium .	$Mg_3 (C_6 H_5 O_7)_2$	75	450	4	0.030	3.375
Chlormagnesium . . .	$Mg Cl_2$	47.5	95	4	0.140	0.7125
Chlorcalcium.	$Ca Cl_2$	55.5	111	4	0.120	0.8325

II. UEBER DIE ANALYSE DER TURGORKRAFT.

Einleitung.

Indem wir jetzt zum physiologischen Theile unserer Untersuchung übergehen, sei es gestattet, in kurzen Zügen anzugeben, welcher Art die Fragen sind,welche mich das Bedürfniss empfinden liessen, den Antheil der verschiedenen, im Zellsaft gelösten Stoffe an der Turgorkraft messen, oder mit anderen Worten diese Kraft analysiren zu können. 1) Die hervorragende Bedeutung des Turgors für das Leben und speciell für das Wachsthum der Pflan-

1) Ueber diese Fragen vergleiche man auch: *Opera I S. 511* und *Opera II S. 107.*

zen ist, seit den bahnbrechenden Untersuchungen von Sachs, Jedem bekannt, und ich kann mich also sehr kurz fassen. Nach den jetzt allgemein angenommenen Principien seiner Theorie des Wachsthums, wird die Anziehung des Zellsaftes zu Wasser als die mechanische Ursache der Streckung turgescenter Gewebe betrachtet. Die im Zellsafte gelösten Stoffe liefern die Kraft, welche das Wasser in die Zellen hineinzieht, dadurch deren Volumen vergrössert und das rasche Wachsthum der Zellhäute bewirkt. Der Zellsaft aber ist ein Gemenge zahlreicher verschiedenartiger Körper in wässeriger Lösung, und es leuchtet ein, dass diese alle nach Maassgabe ihrer specifischen Affinität zu Wasser, und nach der Menge, in der sie in der betreffenden Zelle vorhanden sind, einen Antheil an der Turgorkraft nehmen werden. Aber unter ihnen giebt es einerseits solche mit grosser, und andere mit geringer Affinität zu Wasser, andererseits kommen einige in hervorragender und andere wieder in sehr untergeordneter Menge in den einzelnen Zellen vor.

Wie es nach zerstreuten Bemerkungen in der bereits sehr ausgedehnten Literatur über diesen Gegenstand den Anschein hat, räumt die herrschende Meinung der Glucose unter den Inhaltsstoffen der Pflanzenzellen den ersten Rang in Beziehung zur Turgorkraft ein, aber es ist klar, dass, wo bestimmte Stoffe, wie z. B. Pflanzensäuren und deren Kalisalze, Rohrzucker, Salpeter oder Chlornatrium im Zellsaft in ganz erheblichen Mengen angehäuft sind, solche Verbindungen jedenfalls einen sehr wesentlichen Theil der fraglichen Kraft liefern werden.

Theoretische Erwägungen weisen mit Bestimmtheit darauf hin, dass die osmotische Kraft des Zellsaftes durch die Lebensthätigkeit des Protoplasma aus anderen, den Zellen zugeführten Kraftformen gebildet wird, und jede tiefere Einsicht in die Gesetze, welche die Turgorkraft beherrschen, muss also von der Frage ausgehen, in welcher Weise dieses geschieht. Giebt es, ausser den Stoffen welche zu anderen Zwecken in den Zellen abgelagert sind, wie z. B. den Nährstoffen, auch solche, welche nur zum Zwecke des Turgors aufgenommen oder gebildet werden? Besitzen die Zellen das Vermögen, wenn bestimmte Inhaltsbestandtheile in besonderen Fällen in ungewöhnlich grosser oder geringer Menge vorkommen, die Summe der Turgorkraft davon, durch geringere oder grössere Production anderer Bestandtheile unbeeinflusst zu erhalten? Welche Aenderungen erleidet diese Kraft bei bestimmten chemischen Umwandlungen, oder bei Aufnahme resp. Abgabe bestimmter Mengen der verschiedenartigsten Verbindungen? In

welcher Weise wird die Zunahme der Turgorkraft beim Wachsthum, bei den Wachsthumskrümmungen und so vielen anderen Bewegungen bewirkt; beruht diese stets auf die Production derselben Substanz, oder auf die Anhäufung verschiedenartiger Körper? — Diese und zahlreiche andere Fragen von principieller Bedeutung dringen sich uns auf, wenn wir es versuchen uns eine Vorstellung von der Art und Weise zu machen, in der durch verschiedene stoffliche Umwandlungen, die so ansehnliche osmotische Kraft des Zellsaftes wachsender Pflanzentheile hervorgebracht wird.

Alle solche Fragen können aber nur dann einer experimentellen Behandlung unterworfen werden, wenn es möglich sein wird, in jedem einzelnen Falle den Antheil der einzelnen Inhaltsbestandtheile an der Turgorkraft mit hinreichender Genauigkeit zu bestimmen. Mit anderen Worten, wenn es möglich sein wird, *eine Analyse der Turgorkraft* zu machen. Für jede solche Analyse ist aber die genaue Kenntniss der drei folgenden Factoren unerlässlich:

1. Die totale Turgorkraft des Zellsaftes.
2. Die quantitative chemische Zusammensetzung des Zellsaftes.
3. Die Anziehung der einzelnen im Zellsaft gelösten Bestandtheile zu Wasser.

Ist die chemische Analyse eine vollständige, so genügen offenbar die beiden letzteren Factoren; da solches bei Pflanzensäften aber gewöhnlich nicht der Fall zu sein pflegt, so muss die totale Turgorkraft unabhängig von den beiden anderen Factoren bestimmt werden können.

Sind die drei erwähnten Factoren bekannt, so ist die Berechnung der Analyse der Turgorkraft eine äusserst einfache Operation. Denn man braucht nur den Gehalt des Zellsaftes an jeder einzelnen Verbindung mit dem Coëfficienten, der deren Anziehung zu Wasser anweist, zu multipliciren, um die absolute Grösse der Anziehung der einzelnen Bestandtheile zu Wasser zu finden. Lässt sich die Rechnung für sämmtliche Inhaltsstoffe ausführen, so muss die Summe der einzelnen Anziehungen der totalen Turgorkraft gleich sein; sonst ist sie um so viel kleiner, als den nicht bestimmten Inhaltsstoffen entspricht. Die Umrechnung der einzelnen gefundenen Werthe in Procente der ganzen Turgorkraft, liefert dann in beiden Fällen die gewünschte Analyse. [1]

---

1) Beispiele solcher Analysen der Turgorkraft findet man am Schlusse des zweiten Abschnittes.

Nachdem wir nun im ersten Theile die Coëfficienten kennen gelernt haben, welche uns die relative Grösse der Anziehung der einzelnen, im Zellsaft gelösten Bestandtheile zu Wasser anweisen, werden wir jetzt zunächst im ersten Abschnitt dieses zweiten Theiles eine Methode ausarbeiten, um die Turgorkraft eines gegebenen Zellsaftes zu messen, und dann im zweiten Kapitel nachweisen, wie aus dem dabei erhaltenen Resultat, und der chemischen Analyse des Saftes, sich die Analyse der Turgorkraft berechnen lässt.

Zu einer bequemeren und sicheren Anwendung unserer Methode auf die verschiedenartigsten physiologischen Probleme bedarf es aber ferner einer vorläufigen Orientirung auf diesem neuen Gebiete. Ich habe deshalb die wichtigsten Factoren der Turgorkraft für die gewöhnlichsten Fälle in ihrer relativen Grösse wenigstens in den Hauptzügen ermittelt, und die Resultate meiner diesbezüglichen Versuche im dritten Abschnitt niedergelegt. Hoffentlich werden diese allgemein gehaltenen Ergebnisse zahlreicher Turgorkraft-Analysen für die Behandlung von speciellen Fragen die erforderlichen Ausgangspunkte bieten. Im vierten Kapitel gebe ich dann ein Beispiel von der Art und Weise, wie die Gesetze der isotonischen Coëfficienten zur Lösung besonderer pflanzenphysiologischer Probleme angewandt werden können.

Abschnitt I. **Ueber die Messung der Turgorkraft ausgepresster Zellsäfte.**

Unter der Turgorkraft versteht man die Kraft, mit der der Inhalt einer lebendigen Zelle ihre Haut auszudehnen bestrebt ist, resp. wirklich ausdehnt. Die elastische Spannkraft der gedehnten Haut hält dieser Turgorkraft das Gleichgewicht. Die Ursache dieser Kraft aber stellen die verschiedenen im Zellsafte gelösten Verbindungen dar, welche das Wasser aus der Umgebung in die Zelle ziehen, und dadurch das Volumen des Zellsaftes zu vergrössern streben. Diese Turgorkraft, diese Affinität der gelösten Bestandtheile des Zellsaftes zu Wasser, ist die mechanische Ursache der Zellstreckung, wie durch die bahnbrechenden Arbeiten von Sachs endgültig bewiesen ist.

Eine genaue Messung der Turgorkraft wachsender Pflanzentheile war bisher nicht möglich. Die Beobachtungen von Sachs an geotropisch sich krümmenden Grasknoten, welche die ganze darniederliegende Pflanze (z. B. Mais) aufheben, hatten gelehrt, dass

es sich hier jedenfalls um ganz bedeutende Kräfte handelt, und die Messungen Pfeffer's zeigten, dass die Gelenkpolster mancher Pflanzen bei ihren Bewegungen Kräfte ausüben, welche einen Widerstand von mehreren Atmosphären zu überwinden im Stande sind. Auch in wachsenden Sprossgipfeln wurde die Turgorkraft im Mittel auf etwa 4—5 Atmosphären bestimmt (vergl. S. 230).

Die äussere Kraft, welche ein wachsendes oder sich bewegendes Organ zu leisten im Stande ist, ist aber nicht ohne Weiteres der Turgorkraft des Saftes seiner Zellen gleich zu setzen, da ja auch innere Arbeit bei diesen Vorgängen zu leisten ist. Denn es muss die elastische Spannung der Zellhäute, der Protoplaste und namentlich der passiv gedehnten Gewebe überwunden werden. Zur Messung der Turgorkraft der Zellsäfte ist dieser Weg also nicht sehr geeignet.

In den Analysen der Turgorkraft muss die Affinität der einzelnen Bestandtheile des Zellsaftes auf die Turgorkraft des ganzen Saftes bezogen werden, wenn man ihren procentischen Antheil an der gesammten Kraft berechnen will. Die Turgorkraft selbst muss also mit viel grösserer Genauigkeit, als bisher der Fall war, gemessen werden können, und zwar mit demselben Maasstabe, wie die Affinität der einzelnen Bestandtheile des Zellsaftes zu Wasser.

Diesen Anforderungen genügen aber die Methoden, welche wir zur Ermittelung der isotonischen Coëfficienten benutzt haben vollkommen, und wir haben in diesem Paragraphen nur auseinanderzusetzen, wie sie auf diese Aufgabe anzuwenden sind. Es handelt sich dabei stets darum, den Salpeterwerth (S. 141) des betreffenden Saftes zu messen, d. h. die Concentration jener Salpeterlösung ausfindig zu machen, welche dieselbe Anziehung zum Wasser besitzt wie der fragliche Saft.

Auf dem ersten Blick giebt es zur Lösung unserer Aufgabe zwei Wege, welche wir jetzt zunächst mit einander vergleichen wollen. Einmal kann man den Salpeterwerth des ausgepressten Zellsaftes in derselben Weise bestimmen, wie bei chemisch reinen Substanzen. Oder man kann den Salpeterwerth des in der lebendigen Zelle befindlichen Saftes nach der plasmolytischen Methode — für wachsende Theile nach der Methode der Gewebespannung — durch Aufsuchung der plasmolytischen Grenzconcentration (S. 145) resp. der indifferenten Concentration (S. 189) ermitteln.

In beiden Fällen finden die im ersten Theil besprochenen Methoden, mit geringen Abänderungen, Anwendung. Beide Verfahren haben gewisse Vor- aber auch gewisse Nachtheile. Handelt

es sich um eine Analyse der Turgorkraft, und muss man also den Zellsaft einer chemischen Analyse unterwerfen, so verdient die erstere ohne Zweifel den Vorzug. Erstens, weil man ohnehin den Saft durch Auspressen gewinnen muss, und zweitens, weil man sicher ist, den totalen Salpeterwerth für genau dieselbe Flüssigkeit zu bestimmen, deren einzelne Bestandtheile man auf chemischem Wege ausmisst.

Ein Nachtheil, der der Methode des ausgepressten Zellsaftes anklebt, liegt darin, dass der durch Auspressen gewonnene Saft keineswegs ohne weiteres dem Zellsafte der Parenchymzellen gleichgestellt werden kann. Gar häufig sind die Pflanzentheile so dünn, dass es unmöglich ist das Parenchym in hinreichender Menge von den übrigen Geweben zu trennen, und sogar in manchen grossen Blattstielen (wie *Rheum*, *Gunnera*, *Lappa* u. s. w.) ist das ganze Mark von Gefässbündeln durchsetzt, und kann also füglich nicht isolirt werden. Der Saft enthält also das Wasser und die löslichen Stoffe sehr ungleichnamiger Gewebe, und weder sein absoluter Salpeterwerth, noch seine Zusammensetzung ist dem des Schwellgewebes völlig gleich. Aus dem Xylem kann z. B. Wasser, aus dem Phloëm können Eiweiss und Phosphate aufgenommen werden. Andererseits sind die einzelnen Schichten des Parenchyms einander ungleich; die Zuckerscheide ist häufig reicher an Zucker, die inneren Markzellen haben nicht selten grössere Anziehung zu Wasser als die äusseren, und man ist also ohnehin verpflichtet, sich mit Mittelzahlen zufrieden zu stellen.

Vorläufige Versuche, welche ich speciell zu diesem Zwecke angestellt habe, haben aber gezeigt, dass der Antheil des Parenchymsaftes an dem ausgepressten Saft ein so überwiegender ist, dass der Einfluss der übrigen Gewebe ganz in die Grenzen der auch sonst möglichen Beobachtungsfehler zurücktritt. Sowohl der Salpeterwerth als auch die quantitativ-chemische Zusammensetzung zeigte sich nicht wesentlich anders, wenn das ganze Organ, oder sein möglichst gereinigtes Mark der Analyse unterworfen wurde.

Die zweite Methode liefert gleichfalls nicht ohne weiteres die Grösse der Turgorkraft des Zellsaftes. In den im ersten Theil (Abschnitt III, § 2) beschriebenen Versuchen, ist für eine Reihe von Arten diejenige Concentration einer Salpeterlösung bestimmt worden, in der sich die isolirten Kreuzstreifen wachsender Sprosse weder auf-noch abrollen. Diese Concentrationen bewegen sich in der übergrossen Mehrzahl der Fälle zwischen etwa 0.16 und 0.22 Aequiv. Kalisalpeter, und sind im Mittel aus allen 43 Versuchen

gleich 0.18 Aeq. KNO_3. Mit dieser Kraft kann man also annehmen, dass das wachsende Markgewebe Wasser anzieht. Aber ist dieses nun auch der Salpeterwerth des Zellsaftes? Offenbar nicht, denn der Zellsaft muss bei der Aufnahme von Wasser den Widerstand der elastisch gedehnten Zellhaut überwinden, und die wasseranziehende Kraft des ganzen Gewebes ist also gleich der Turgorkraft seiner Zellsäfte, vermindert mit der elastischen Spannkraft der Zellhäute. Solange man also nicht im Stande ist, die Spannkraft der Zellenwände zu messen oder zu eliminiren, führt diese Methode nicht zu einer Kenntniss des Salpeterwerthes der Zellsäfte. Allerdings scheint in wachsenden Markzellen jene Spannkraft keine sehr grosse zu sein, wie schon daraus hervorgeht, dass isolirte Markprismen sich im Wasser um mehr als ein Drittel ihrer Länge ausdehnen können, bevor ein Gleichgewicht zwischen Turgorkraft und Spannkraft der Wandungen erreicht ist. Im unverletzten Sprossgipfel sind es ja hauptsächlich die passiv gedehnten Gewebe (Epidermis, Collenchym, Gefässbündel u. s. w.), welche dem Ausdehnungsstreben des Markes das Gleichgewicht halten. Andererseits spricht hierfür der Umstand, dass, wie schon erwähnt, die Turgorkraft des ganzen Markgewebes im Mittel aus zahlreichen Versuchen zu 0.18 Aeq. KNO_3 gefunden wurde, während wir bald sehen werden, dass die Turgorkraft ausgepresster Zellsäfte wachsender Pflanzentheile im Mittel aus fast 20 Versuchen gleich 0.20 Aeq. KNO_3 zu stellen ist. Der Einfluss der Zellwände ist also hier, allem Anscheine nach, fast verschwindend klein.

Für manche Zwecke dürfte sich diese Methode zur Bestimmung der Turgorkraft wachsender Pflanzentheile sehr empfehlen, zumal wo es sich darum handelt, die Aenderungen kennen zu lernen, welche die Grösse dieser Kraft unter verschiedenen äusseren Einflüssen erleidet.

Eine Bestimmung der Turgorkraft durch Ermittelung der schwächsten zur Plasmolyse erforderlichen Concentration des Salpeters, oder der höchsten Concentration, welche noch gerade keine Plasmolyse hervorruft, wird in der grossen Mehrzahl der Fälle schon aus dem Grunde nicht zu befriedigenden Resultaten führen, weil jene Concentration in den meisten Geweben für die einzelnen Zellen eine sehr verschiedene ist, und eine genaue Bestimmung also nur selten möglich sein wird. Dazu kommt, dass in parenchymatischen Geweben, und zumal in solchen mit farblosem Zellsaft, geringe Grade der Plasmolyse sich nur zu leicht in zahlrei-

chen Zellen der Beobachtung entziehen. Auf diesen Punkt brauchen wir aber nicht weiter einzugehen.

Für unseren Zweck bleibt also nur übrig, die Turgorkraft ausgepresster Zellsäfte zu ermitteln, und wir wenden uns jetzt zu der Beschreibung des dazu anzuwendenden Verfahrens. Ich bespreche gesondert die Bereitung der Säfte und die Messung ihres Salpeterwerthes.

Bereitung ausgepresster Zellsäfte. Die Säfte habe ich stets mittelst einer Handpresse aus den Geweben herausgepresst, und zwar fast immer, bis sich damit nahezu nichts mehr gewinnen liess; das zurückbleibende, selbstverständlich noch einen wesentlichen Theil des Saftes enthaltende Gewebe wurde nicht weiter benutzt. Eine Verdünnung mit Wasser fand also nie statt. Der gewonnene Saft wurde stets durch Filtriren (durch nicht vorher befeuchtete Filter) möglichst geklärt.

Nur bei ausgewachsenen oder nahezu ausgewachsenen Geweben, und bei diesen noch bei Weitem nicht immer, erhält man auf diese Weise eine klare, gut filtrirbare Flüssigkeit. In wachsenden Theilen ist der Saft gewöhnlich so reich an Eiweiss, dass eine Abscheidung dieses nicht umgangen werden kann. Ich habe in solchen Fällen das Eiweiss durch Erwärmen coagulirt, und zwar entweder in den Organen selbst, vor dem Pressen, oder im ausgepressten Saft, gewöhnlich sogar der Sicherheit wegen in beiden. Das Erwärmen der ganzen Organe, sowie das der ausgepressten Säfte geschah stets in geschlossenen Gefässen, im Wasserbade bei 100° C.; die Gefässe wurden erst geöfnet, als sie völlig auf die Temperatur der Umgebung abgekühlt waren. In dieser Weise konnte einer Concentrationsänderung durch Verdunstung in wirksamer Weise vorgebeugt werden.

Werden Pflanzentheile vor dem Pressen bei nahezu 100° C. erhitzt, so werden die Protoplaste ihrer Zellen getödtet und der Saft fliesst dann leichter aus, als wenn man das lebendige Gewebe unter die Presse bringt. Man hat dann einen doppelten Vortheil. Erstens gewinnt man den Saft weit vollständiger, und wenn davon eine bestimmte Anzahl Cubikcentimeter zur Analyse erforderlich sind, kann man also mit einer geringeren Menge von Material auskommen. Aus vorher getödteten Theilen erhält man häufig die 1½ bis zweifache Menge derjenigen, welche dieselben Theile, frisch gepresst, geliefert haben würden. Zweitens aber können sich hier die Säfte sämmtlicher Zellen mischen, während beim Pressen lebender Organe zahllose Zellen geschlossen blei-

ben. Weicht deren Inhalt von dem der übrigen Zellen ab, so entspricht der gewonnene Saft nur nach vorherigem Tödten dem wirklichen Mittelwerth. Zumal bei vergleichenden Versuchen ist dieses zu berücksichtigen. Doch lehrten mich einige Vorversuche, dass weder der Salpeterwerth, noch auch die quantitativ-chemische Zusammensetzung von Säften, welche nach beiden Methoden aus demselben Pflanzentheil gewonnen waren, wesentliche Verschiedenheiten zeigten.

Die Filtration geschah meist zuerst durch Leinwand, um die gröberen Theilchen zu trennen, und dann durch Filtrirpapier. Beide waren selbstverständlich vorher in üblicher Weise mit Salzsäure ausgewaschen und wurden vor dem Gebrauche nicht befeuchtet. Die Trichter ruhten auf enghalsige Flaschen und wurden mit Glasplatten gedeckt, um die Verdunstung zu mässigen.

Bei der Erwärmung auf 100° C. können die Säfte, ausser der Coagulation des Eiweisses, noch weitere Veränderungen erleiden. Mit dem Eiweiss wird ein Theil der Phosphate und der anderen Salze niedergeschlagen. Es darf aber angenommen werden, dass diese Salze mit dem Eiweiss aus den Protoplasten und dem Phloëm aufgelöst waren, und dass ihre Fällung die Zusammensetzung des Saftes von der des wirklichen Zellsaftes nicht entfernt. Ist Rohrzucker vorhanden, so kann dieser durch die Säuren des Saftes invertirt werden. Nach einigen Vorversuchen aber nur zu einem geringen Theile, und da ich in den Säften wachsender Pflanzentheile in der Regel überhaupt keinen Rohrzucker fand, so ist diese Fehlerquelle wohl nur selten von Bedeutung. Wichtiger ist das Verhalten der Citronensäure. Die Pflanzensäfte enthalten fast immer Kalksalze; wenn also auch citronensaure Salze vorhanden sind, wird diese Säure in Verbindung mit Kalk durch die Erwärmung auf 100° C. gefällt. In den so bereiteten Säften konnte ich dementsprechend nie Citronensäure nachweisen. Glücklicherweise sind die Säfte wachsender Pflanzentheile gewöhnlich nicht so reich an Citronensäure, dass durch Fällung ihres Kalksalzes ein erheblicher Fehler in der Bestimmung des gesammten Salpeterwerthes zu befürchten wäre.

Handelt es sich nicht um eine Messung der Turgorkraft an sich, sondern um eine Vergleichung dieser mit dem Salpeterwerthe der einzelnen Bestandtheile des Saftes, so ist der Schaden, der aus diesen Fehlerquellen entstehen könnte, ein um so geringerer, als die chemische Analyse des Saftes durch sie in derselben Weise beeinflusst wird wie die Messung der Turgorkraft. Die gegenseiti-

ge Vergleichbarkeit beider bleibt also im Wesentlichen unbeeinträchtigt.

Messung des Salpeterwerthes ausgepresster Zellsäfte. Der Salpeterwerth eines Zellsaftes lässt sich genau nach derselben Weise bestimmen, wie der einer beliebigen chemisch-reinen Lösung. Zu empfehlen ist dafür also die vergleichende plasmolytische Methode, und ich darf somit für die einzelnen Vorschriften, die bei der Ausführung zu beachten sind, auf den ersten Theil (Abschn. II § 1. S. 150) verweisen. Als Indicatorpflanzen kann man die dort beschriebenen *Curcuma rubricaulis* und *Tradescantia discolor* benutzen, thatsächlich habe ich bis jetzt fast nur die letztere gebraucht, weil mir zur Zeit meiner bisherigen Analysen die *Curcuma* nicht zur Verfügung stand.

Von *Tradescantia discolor* wählte ich stets nur die mittleren Zellen des Mittelnerven; die seitlichen habe ich bei diesen Bestimmungen nie gebraucht. Für die Herstellung der Präparate vergleiche man S. 155.

Eine wesentliche Aenderung in der dort beschriebenen Methode ist durch den Umstand bedingt, dass Pflanzensäfte gewöhnlich kaum in hinreichender Menge zu einer chemischen Analyse zu haben sind, wenigstens wenn man darauf hält, die Pflanzentheile rein von anhängenden Organen und möglichst von gleichem Alter zur Saftbereitung einzusammeln. Sollen dazu nur junge wachsende Organe, und diese von möglichst verschiedenen Arten, studirt werden, so ist es wesentlich, die Analysen mit den kleinstmöglichen Saftmengen ausführen zu können. Auch die Bestimmung des Salpeterwerthes soll also mit so wenig Saft geschehen, wie nur ohne Gefahr für ihre Genauigkeit möglich ist.

Die Herstellung einer Reihe von Lösungen verschiedener Concentration, wie die vergleichende plasmolytische Methode sie verlangt, fordert aber ein ziemlich grosses Quantum der ursprünglichen Lösung. Denn je grösser die jedesmal zur Verdünnung mit Wasser ausgemessenen Volumina, um so genauer wird die erwünschte Concentration der einzelnen Lösungen erreicht. Bei den im ersten Theil mitgetheilten Versuchen zur Bestimmung der isotonischen Coëfficienten bereitete ich mir gewöhnlich von der ursprünglichen Lösung 100 bis 200 CC, nie unter 50 CC. So grosse Mengen ausgepresster Säfte können aber nur relativ selten für die Bestimmung des Salpeterwerthes geopfert werden; gewöhnlich stehen dafür höchstens 10 bis 20 CC zur Verfügung.

Daher habe ich hier stets einen ganz anderen Weg eingeschla-

gen. Statt zu den einzelnen Lösungen verschiedene Mengen Saft mit verschiedenen Mengen Wasser zu mischen, habe ich stets dieselbe Menge Saft mit derselben Menge einer anderen Flüssigkeit zusammengebracht, letztere war aber für jede einzelne Mischung eine andere. Zur Vermengung benutzte ich aber einfach Salpeterlösungen verschiedener Concentration.

Ein Beispiel möge das Princip dieser Methode erläutern. Es sei ein ausgepresster Saft zu untersuchen, und als Indicatorgewebe diene eine Stück Oberhaut van *Tradescantia*, welches in einer Lösung von 0.13 Aeq. KNO_3 gerade den Anfang der Plasmolyse zeigt. Ich mische nun 1 CC des Saftes mit 1 CC einer Salpeterlösung von 0.02 Aeq.; die Mischung enthält also den auf die Hälfte verdünnten Saft + 0.01 Aeq. KNO_3; in ihr zeigt das Indicatorgewebe keine Plasmolyse. Der auf die Hälfte verdünnte Saft hat also geringere Anziehung zu Wasser als 0.13—0.01 = 0.12 Aeq. KNO_3. Ich wiederhole den Versuch und mische jetzt zu dem Saft ein gleiches Volumen einer Salpeterlösung von 0.20 Aeq. KNO_3 und beobachte in der Mischung starke Plasmolyse. Der halbe Saft ist also stärker als 0.13—0.10 = 0.03 Aeq. KNO_3. Es gilt nun, diese Grenzen näher zusammenzuziehen, und ich mische zu diesem Zweck je 1 CC des Saftes mit je 1 CC Kalisalpeterlösung von 0.04, 0.06 und 0.08 u. s. w. bis 0.18 Aeq. KNO_3. Es zeige sich, dass gerade ein Zusatz von 0.10 Aeq. KNO_3 genüge, um den schwächsten Grad von Plasmolyse hervorzurufen. Der halbe Saft hat dann den Salpeterwerth 0.13—0.05 = 0.08, der unverdünnte Saft ist somit isotonisch mit 0.16 Aeq. KNO_3.

Die Erfahrung hat gelehrt, dass es in weitaus den meisten Fällen hinreicht, den Saft nur mit folgenden Salpeterlösungen zu vermengen, um schon durch den ersten Versuch seinen Salpeterwerth mit hinreichender Genauigkeit zu erfahren: 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10 und 0.12 Aeq. KNO_3. Selten sind dazu einerseits destillirtes Wasser, andererseits 0.14 Aeq. KNO_3 erforderlich. Dadurch war es mir später fast stets möglich, Vorversuche zu umgehen und den Hauptversuch sogleich mit 6—8 Mischungen anzustellen, und es fordert somit die Methode für jede einzelne Bestimmung höchstens 6—8 CC Saft.

Die Salpeterlösungen zur Mischung, sowie die sechs zur Controle (0.10—0.15 Aeq. KNO_3) bestimmten, hielt ich mir jedesmal in hinreichenden Quantitäten bereit, um bei wiederholtem Gebrauch keine Aenderung ihrer Concentration befürchten zu müssen, und bewahrte sie in gut verschlossenen Flaschen, welche sie

möglichst ausfüllten, auf. Nach zwei bis drei Monaten muss man sich diese Lösungen aber vorsichtshalber neu herstellen.

Eine grössere Annäherung der Concentration der mit dem Saft zu mischenden Salpeterlösungen, z. B. auf 0.01 Aeq. KNO_3, hat mich nicht zu grösserer Genauigkeit in den Resultaten geleitet. Dasselbe war der Fall, als ich Saft und Salpeter in anderen Volumverhältnissen mischte. Die Genauigkeit, mit der man jedesmal 1 CC abmessen kann, bedingt hier die erreichbare Grenze. Die Mischung fand stets in den kleinen Glascylinderchen statt, in denen die Gewebestückchen dem Versuch unterworfen werden sollten.

Bisweilen stösst man auf Säfte, welche bei einer Verdünnung mit dem gleichen Volum Wasser das Indicatorgewebe noch plasmolysiren. Diese können nicht anders nach obiger Methode untersucht werden, als dass man sie vorher ganz auf z. B. die Hälfte oder zwei Drittel verdünnt. Dass das Resultat entsprechend an Genauigkeit verliert, schadet bei solchen ausnahmsweise hohen Salpeterwerthen in der Regel wenig.

Es war bei diesem Verfahren von Interesse, zu erfahren, ob die Vermischung mit so beträchtlichen Mengen eines leicht diffundirenden Salzes, wie der Salpeter ist, etwa einen Einfluss auf das Resultat haben könnte. Zwar war solches nicht zu erwarten, jedoch habe ich mit einigen Säften den Salpeterwerth nebenher noch bei Zusatz von Rohrzuckerlösungen an Stelle des Salpeters bestimmt. Es geschah dieses in der folgenden Weise. Es wurden Lösungen von Rohrzucker von solchen Concentrationen hergestellt, dass sie mit den üblichen Salpeterlösungen genau isotonisch waren, und nun mit diesen, theils zur Mischung mit den Pflanzensäften, theils als Controle, einfach so verfahren, als ob es Salpeterlösungen wären. Bestimmungen, in dieser Weise ausgeführt, lieferten für den Saft jugendlicher Sprossgipfel von *Helianthus tuberosus*, des Markes wachsender Blattstiele von *Gunnera scabra* und *Heracleum Sphondylium* dieselben Resultate, wie die mit den Salpeterlösungen selbst ausgeführten Versuche. Von dieser Seite ist also kein Fehler zu befürchten.

Stark saure Säfte, wie z. B. von *Rheum* und *Begonia* würden die Protoplaste des Indicatorgewebes angreifen und tödten, und dadurch die Bestimmung des Salpeterwerthes falsch oder unmöglich machen. Sie werden deshalb vorher neutralisirt. Dabei ist folgendes zu berücksichtigen. Der Saft wird mit einer vorher bestimmten Menge einer kohlensäurefreien Kalilösung soweit neutrali-

sirt, bis er noch grade schwach sauer reagirt; alkalische Reaction ist durchaus zu vermeiden. Dabei erleidet der Saft erstens eine Verdünnung und zweitens eine Erhöhung seines Salpeterwerthes durch Umwandlung der freien Säure in das entsprechende Kalisalz. Ist also der Salpeterwerth des neutralisirten Saftes nach obiger Methode gefunden, so bedarf dieser einer zweifachen Correction. Die wegen der Verdünnung ergiebt sich von selbst, die wegen des Zusatzes von Kali aus der Betrachtung, dass jedes Aequivalent Kali den Salpeterwerth gleichviel erhöht, wie $1/3$ Molecül Kalisalpeter, da ja der partielle isotonische Coëfficient des Kaliums (in Verbindungen) = 1 ist (S. 220). Durch diese Operation büsst die Bestimmung ein wenig an Genauigkeit ein.

Weitaus die meisten Pflanzensäfte bedürfen aber weder der vorherigen Verdünnung, noch auch der Neutralisation. Gewöhnlich sind sie nur schwach sauer, enthalten keine Oxalsäure, sondern meist vorwiegend die schwächere Aepfelsäure, und diese nicht im freien Zustande, sondern als saures Salz. Ich habe nun einige Vorversuche angestellt, um mich zu überzeugen, dass saures Aepfelsaures Kalium, auch wenn es zu einer vielfach stärker saueren Lösung aufgelöst ist als in den Pflanzensäften, dennoch die Ermittelung des Salpeterwerthes der Lösung mit *Tradescantia discolor* nicht gefährdet. Ich gehe jetzt zu der Beschreibung dieser Versuche über.

Einfluss der sauren Reaction der Zellsäfte auf die Bestimmung ihrer Salpeterwerthe. Die saure Reaction der meisten Zellsäfte rührt, wie gesagt, wohl von saurem äpfelsaurem Kalium her; die Stärke ihrer Reaction entspricht nur selten derjenigen einer Lösung von 0.05 Aeq. Aepfelsäure, und bei unserer Methode, wegen der Verdünnung mit dem gleichen Volum Salpeterlösung, also höchstens 0.025 Aeq. Eine so schwach saure Reaction ist für die Zellen der *Tradescantia* durchaus unschädlich.

Saure Lösungen, welche das Leben dieser Zellen beeinträchtigen, pflegen durch die Protoplaste zu dringen, sich mit dem Zellsaft zu mischen, und dessen violette Farbe in roth zu verwandeln. In den gewöhnlichen ausgepressten Pflanzensäften beobachtete ich diese Umfärbung unserer Zellen nicht, ebensowenig in einer sauren Lösung von äpfelsaurem Kalium, deren saure Reaction = 0.2 Aeq. dieser Säure, also verhältnissmässig sehr stark, war.

Um nun zu erfahren, ob Bestimmungen in sauren äpfelsauren Lösungen mit *Tradescantia* genaue Resultate liefern, habe ich einerseits saure Lösungen aepfelsauren Kaliums mit neutralen des-

selben Salzes, andererseits Salpeterlösungen, denen Aepfelsäure zugesetzt war, mit reinen Salpeterlösungen verglichen. Es wird hinreichen von beiden Reihen Ein Versuch als Beispiel anzuführen.

Zum ersteren Versuch bereitete ich eine Lösung von 0.2 Aeq. Aepfelsäure, und solche von neutralem äpfelsaurem Kalium von verschiedenen Concentrationen. Es wurden nun diese Lösungen derart gemischt, dass die Mischungen jedesmal 0.1 Aeq. Aepfelsäure, aber verschiedene Mengen äpfelsauren Kaliums enthielten.[1] Ich suchte nun mit Tradescantia discolor nach der vergleichenden plasmolytischen Methode für dasselbe Gewebe die zur Plasmolyse gerade erforderliche Concentration der neutralen und der sauren Flüssigkeiten, und fand folgendes, bei einer Versuchsdauer von 2¼ Stunde:

Im neutralen äpfelsauren Kalium von:

0.15 Aeq. K_2M[2]	keine Plasmolyse.
0.165 - -	die Hälfte der Zellen plasmolysirt.
0.18 - -	alle Zellen plasmolysirt.

In den sauren Lösungen von:

0.10 Aeq. $K_2M + 0.1$ Aeq. M[3]	keine Plasmolyse.
0.115 - $K_2M + 0.1$ - M	die Hälfte der Zellen plasm.
0.130 - $K_2M + 0.1$ - M	alle Zellen plasmolysirt.

Es wird also 0.165 Aeq. K_2M mit 0.115 Aeq. $K_2M + 0.1$ Aeq. M. isotonisch gefunden. Der isot. Coëff. von M ist aber 2, von K_2M 4, und es muss also 0.2 Aeq. M gerade 0.1 K_2M vertreten können. Also:

$$0.115 \text{ Aeq. } K_2M + \tfrac{1}{2} \times 0.1 \text{ Aeq. } K_2M = 0.165 \text{ Aeq. } K_2M.$$

Es stimmt demnach die Rechnung genau mit dem Befunde überein, und es wird also die Bestimmung des Salpeterwerthes der sauren Lösung durch Anwesenheit von 0.1 Aeq. Säure nicht beeinträchtigt.

Zu dem zweiten Versuch gab die Erwägung Veranlassung, dass in den mitgetheilten Experimenten neben der Säure kein Kalisalpeter anwesend war, und dass die saure Reaction der Zellsäfte vielleicht die Permeabilität der Zellen der *Tradescantia* für dieses Salz erhöhen und dadurch eine Fehlerquelle eröffnen könnte. Die Erfahrung hat dies nicht bestätigt, wie folgender Versuch lehrt:

Ich bereitete mir eine Lösung von 0.12 Aeq. Aepfelsäure, welche

---

1) Die Verbindung der Säure mit dem Salze zu einem sauren Salze lasse ich der Einfachheit halber bei diesen Auseinandersetzungen unberücksichtigt.

2) K_2M = neutrales äpfelsaures Kalium (Kalium-Malat).

3) M = Aepfelsäure (Malylsäure).

also mit 0.04 Aeq. Kalisalpeter isotonisch war. Ich mischte diese mit gleichen Volumina verschiedener Salpeterlösungen; der Gehalt der Mischungen war also jedesmal 0.06 Aeq. Aepfelsäure (isot. mit 0.02 Aeq. KNO_3). Sodann bestimmte ich die plasmolytische Grenzconcentration für *Tradescantia* mit diesen Mischungen und mit neutralen Salpeterlösungen. Das Resultat war bei:

0.08 Aeq. KNO_3 + 0.06 Aeq. *M* keine Plasmolyse.
0.09 Aeq. KNO_3 + 0.06 Aeq. *M* die Hälfte der Zellen plasm.
0.10 Aeq. KNO_3 + 0.06 Aeq. *M* überall Plasmolyse.

Und in den Controle-Versuchen:

0.10 Aeq. KNO_3 keine Plasmolyse.
0.11 „ „ die Hälfte der Zellen plasmolysirt.
0.12 „ „ überall Plasmolyse.

Somit wurde 0.09 Aeq. KNO_3 + 0.06 Aeq. *M* isotonisch gefunden mit 0.11 Aeq. KNO_3. Nach der Rechnung aber müsste die erstere Lösung isotonisch sein mit 0.09 + 0.02 = 0.11 Aeq. KNO_3. Differenz 0.00.

Auch von Lösungen, welche frei Aepfelsäure oder saures äpfelsaures Kalium enthalten, kann der Salpeterwerth also nach unserer Methode ohne Fehler bestimmt werden, auch wenn sie viele Male stärker sauer sind als die Pflanzensäfte in der Verdünnung, wie sie bei unseren Versuchen angewandt werden müssen.

Die saure Reaction der gewöhnlichen Zellsäfte hat also auf die Ermittelung des Salpeterwerthes keinen Einfluss.

Beispiele von Salpeterwerthen ausgepresster Zellsäfte. Nach der im Vorhergehenden begründeten Methode habe ich nun für eine Reihe von Pflanzen den Salpeterwerth des ausgepressten Saftes ermittelt, und mich dadurch von der Brauchbarkeit der Methode überzeugt. Verbesserungen, die ich während dieser Zeit anbrachte, habe ich in die Beschreibung ohne weitere Bemerkung aufgenommen.

Die Anwendung der Methode wird ganz bedeutend vereinfacht, wenn man im Voraus das zu erwartende Resultat annähernd bestimmen kann. Es geschieht dies in der Regel durch directe Vorversuche, deren Wahl aber durch eine statistische Kenntniss der überhaupt bei Pflanzensäften vorkommenden Salpeterwerthe sehr beschränkt werden kann. Die Natur und das Alter des Organs, das Trockengewicht des Saftes, der Gehalt an Zucker, pflanzensauren Salzen und anderen verbreiteten Inhaltsbestandtheilen geben hier wichtige Fingerzeige. Lässt man einen Tropfen auf dem Objectträger eintrocknen und krystallisiren Chloride, Salpeter oder andere

leicht kenntliche Verbindungen heraus, so weist dieses, in Verbindung mit anderen Factoren, häufig schon auf hohe oder niedere Salpeterwerthe. Durch Berücksichtigung solcher Eigenschaften gelang es mir bei den späteren Versuchen in zahlreichen Fällen Vorversuche völlig zu umgehen, und den Hauptversuch derart anzustellen, dass er direct zu einem Resultate führte.

Ich gebe nun zunächst eine ausführliche Beschreibung eines einzelnen Versuches, und wähle dazu

Gunnera scabra.

Ein nahezu ausgewachsener, 45 cm. langer, 3.5—4 cm dicker Blattstiel, dessen Spreite fast 45 cm lang war, wog 400 Gramm. Es wurde das innere Mark, welches von spärlichen Gefässbündeln durchzogen war, in einem Gewicht von 123 Gramm isolirt, und sogleich in die Presse gebracht. Es lief ein fast klarer, nahezu farbloser Saft heraus, der ohne Erwärmung sich vollständig klar filtriren liess. Es wurden nahezu 60 Gramm erhalten, und zu einer, im nächsten Abschnitt mitzutheilenden Analyse verwandt. Der Saft enthielt 1.6 pCt. Trockensubstanz; beim Eintrocknen auf dem Objectglase krystallisirte Chlorkalium in schönen deutlichen Krystallen heraus. Frühere Versuche liessen erwarten, dass der Salpeterwerth des Saftes nicht weit von den gewöhnlichen Salpeterwerthen der Säfte wachsender Pflanzentheile (0.16—0.22 Aeq. KNO_3) abweichen würde.

Es wurden nun ein Gestell mit sechs kleinen gläsernen Cylindern von 15—20 CC Inhalt zu dem Hauptversuch, und ein gleiches zu der Controle bestimmt. In jedes Röhrchen des ersten Gestelles brachte ich genau 1 CC des Saftes, und mischte dazu 1 CC einer Salpeterlösung, welche für das erste Röhrchen 0,02 Aeq., für das zweite 0.04 Aeq., für die übrigen 0.06, 0.08, 0.10 und 0.12 Aeq. KNO_3 enthielt. In die Röhrchen des Controle-Gestelles kamen Salpeterlösungen von 0.10—0.15 Aeq., in Quantitäten von etwa 4 bis 5 CC. Von einem kräftigen Blatte von *Tradescantia discolor* wurde nun die Oberhaut der Unterseite gereinigt, und in der Mitte des Mittelnerven mit einem Rasirmesser dreizehn feine Querstriche in Entfernungen von je 1—1½ mm eingeritzt. Die dadurch entstandenen zwölf Abtheilungen wurden nun mit dem Rasirmesser vom unterliegenden Gewebe abgeschnitten, und dienten als Präparate zur Bestimmung der Plasmolyse. Sie kamen der Reihe nach, wie sie dem Blatte entnommen wurden, von unten nach oben in die Röhrchen, und zwar abwechselnd in die Saftmischungen und in die

reinen Salpeterlösungen, mit denen der geringsten Concentration anfangend und regelmässig zu den höheren Concentrationen aufsteigend. Diese Anordnung hat zur Folge, dass in beiden Gestellen die Röhrchen mit niederer Concentration dicht neben einander dem Blatte entnommene Präparate erhalten, und dass dasselbe für die Lösungen mittlerer und höherer Concentration gilt.

Nach zwei Stunden wurden die Präparate mikroskopisch untersucht, und ermittelt, zwischen welchen Lösungen in beiden Gestellen die Grenze der Plasmolyse lag. Die Grenzlösungen waren die folgenden:

Hauptversuch: 1 CC Saft mit 1 CC 0.06 Aeq. KNO_3 keine Plasmolyse.
„ 1 CC „ „ 1 CC 0.08 „ „ in allen Zellen Plasm.
Controle: 0.11 Aeq. KNO_3 keine Plasmolyse.
„ 0.12 „ KNO_3 in allen Zellen Plasmolyse.

Als isotonisch sind also anzunehmen der Saft mit 0.07 Aeq. KNO_3 einerseits und andererseits eine 0.115 Aeq. KNO_3-Lösung.

Der auf die Hälfte verdünnte Saft wirkt also ebenso stark wie $0.115 - \frac{1}{2} \times 0.07 = 0.08$ Aeq. KNO_3.

Daraus ergiebt sich für den unverdünnten Saft der Salpeterwerth zu 0.16.

In dieser Weise, und mit den bereits erwähnten Abweichungen für stark saure oder hochconcentrirte Säfte, habe ich nun für eine Reihe von Pflanzen den Salpeterwerth des Saftes ermittelt. Eine Auswahl aus diesen Versuchen enthält die folgende Tabelle, deren Resultat durch die Einschiebung meiner übrigen Versuche nicht wesentlich geändert werden würde.

Die Pflanzentheile sind im jugendlichen, wachsenden Zustand untersucht, ausgewachsene Theile, sowie Anhangsgebilde sind stets vorsichtig entfernt, das Material war also jedesmal ein möglichst gleichartiges. In einigen Versuchen wurden die ganzen Organe, in anderen nur das Mark in die Presse gebracht. Die Tabelle enthält in der dritten Spalte den Gehalt des Saftes an Trockensubstanz; um diesen zu ermitteln wurden je 10 CC des Saftes während 14—16 Stunden bei 100° C. im Platintiegel getrocknet. In der vierten Spalte findet man den nach obiger Methode bestimmten Salpeterwerth. Aus diesem ist in der fünften Spalte die Grösse der Turgorkraft in Atmosphären berechnet, unter der Annahme, dass die Affinität einer Salpeterlösung von 0.1 Aeq. zu Wasser etwa 3 Atmosphären beträgt. Diese Zahl ist, wie S. 234 bemerkt wurde, nur annäherungsweise bestimmt, und eher zu niedrig als zu hoch gegriffen, und

dasselbe gilt also auch von den Zahlen der fünften Spalte. Bei dieser Berechnung ist ferner angenommen, dass ihre Anwendung auf alle die untersuchten Pflanzenarten berechtigt ist, worüber man das S. 188 Gesagte vergleichen wolle.

Salpeterwerthe der ausgepressten Zellsäfte einiger Pflanzentheile im jugendlichen, wachsenden Zustand.

Arten.	Organe.	Trocken-gewicht des Saftes.	Salpeter-werth des Saftes.	Turgorkraft in Atm.
Gunnera scabra	Blattstiel.	1.7	0.12	$3^1/_2$
Rochea falcata.	Blattmark.	2.4	0.13	4
Gunnera scabra	Blattstiel.	1.6	0.16	5
Rumex conglomeratus . . .	Stengelspitze.	3.3	0.175	$5^1/_2$
Rheum hybridum	Blattstiel.	3.2	0.18	$5^1/_2$
Archangelica officinalis . . .	„	3.6	0.18	$5^1/_2$
Solanum tuberosum	Blattspreite.	4.1	0.18	$5^1/_2$
Delphinium azureum	Sprossgipfel.	3.8	0.185	$5^1/_2$
Lappa tomentosa	Blattstiel.	2.9	0.185	$5^1/_2$
Heracleum Sphondylium . . .	„	3.5	0.19	$5^1/_2$
Helianthus tuberosus	Blattspreite.	5.9	0.19	$5^1/_2$
Rheum officinale	Blattstiel.	2.8	0.195	6
Dipsacus fullonum	Stengel.	2.6	0.20	6
Carum Carvi	Schirmstiele.	4.1	0.22	$6^1/_2$
Helianthus tuberosus	Sprossgipfel.	3.8	0.23	7
Rosa hybrida	Blumenblätter.	8.0	0.27	8
Hordeum vulgare	Stengelknoten.	—	0.30	9
Sorbus Aucuparia	Junge Beeren.	9.0	0.30	9

Aus dieser Tabelle geht hervor:

1. Der Gehalt der Zellsäfte wachsender Pflanzentheile an fester Substanz ist im Allgemeinen ein sehr geringer, wie dieses bereits Sachs vor langen Jahren aus der geringen Trockensubstanz des ganzen Markes wachsender Sprosse ableitete.[1])
2. Der Salpeterwerth dieser Säfte schwankt bei den meisten Arten zwischen 0.16 und 0.23, nur in wenigen, besonderen Fällen überschreitet er diese Grenze, und dann meist sehr erheblich.

   Im Mittel berechnet er sich aus der Tabelle zu 0.20.
3. Die Turgorkraft der Zellsäfte wachsender Internodien und Blätter schwankt, nach obigen vorläufigen Berechnungen,

1) Vergl. Sachs: Lehrbuch der Botanik, 4 Aufl., S. 775, und Sachs: Vorträge über Pflanzenphysiologie, II, S. 699.

meist zwischen 5 und 7 Atmosphären, kann aber bis auf 3½ Atmosphären sinken und bis auf 9 steigen. Weitere Untersuchungen werden diese Grenzen ohne Zweifel erweitern.

4. Zwischen Gehalt an fester Substanz und Salpeterwerth besteht kein einfacher Parallelismus, wenn auch im Allgemeinen beide Werthe zusammen steigen und fallen. Wo Chlorkalium, Kalisalpeter oder Oxalsäure im Safte vorwiegen, also Substanzen mit geringem Moleculargewicht, ist der Salpeterwerth in Beziehung zum Trockengewicht oft ein relativ hoher (z. B. *Gunnera*, *Lappa*, *Rheum*); wo dagegen die Glucose vorherrscht (Moleculargewicht 180, isot. Coëff. 2), häufig ein relativ niedriger (z. B. *Carum*.)
5. Endlich muss hervorgehoben werden, dass unsere Zahlen keineswegs specifische Constanten sind, sondern nur Beispiele der häufiger vorkommenden Fälle. Die zwischen ihnen obwaltenden Unterschiede rühren mehr von äusseren Verhältnissen (sonnigem oder feuchtem Standort, Trockenheit oder Regenwetter u. s. w.) ab, als von erblichen Differenzen in den Organen und Arten. Vergl. hierüber S. 259.

Einfluss innerer und äusserer Factoren auf die Turgorkraft. Meine Methode empfiehlt sich zum Studium der Abhängigkeit der Turgorkraft van äusseren und inneren Einflüssen, und es möge deshalb hier einiges über die dabei zu erwartenden Resultate, wenigstens soweit es zur Beseitigung von Fehlerquellen dienen kann, mitgetheilt werden.

Zunächst *über die Beziehung der Turgorkraft zu dem Alter der wachsenden Zellen*, mit anderen Worten zu dem Wachsthumsstadium, in welchem sie der Analyse unterworfen werden. In den jüngsten Meristemzellen beobachtet man noch keine Vacuolen, sie besitzen also keinen eigentlichen Zellsaft, und somit nach unserer Definition keine Turgorkraft. Die Imbibition des Protoplasten mit Wasser liefert hier die ausdehnende Kraft. Bald aber tauchen die Vacuolen, zahlreich aber klein, hervor, und die Zelle fängt an, Turgorkraft im eigentlichen Sinne des Wortes zu schaffen. Während nun die Zellen sich erst nur langsam vergrössern, wird die Concentration des Zellsaftes voraussichtlich rasch zunehmen, und wenn das Maximum der grossen Periode des Wachsthums erreicht ist, ohne Zweifel eine ganz bedeutende Kraft zu liefern im Stande sein.

Während meiner Untersuchungen über die Ursachen der Zellstreckung wurde ich auf die Vermuthung geführt, dass die Grösse der Turgorkraft in der zweiten Periode das Wachsthums, d. h. hin-

ter dem Maximum der grossen Periode, keine wesentlichen oder constanten Aenderungen mehr erleiden würde. Der gleichsinnige Verlauf der Curven für die Turgorausdehnung und tur die Dehnbarkeit junger Sprosse bei schwacher Dehnung gab mir dazu die Veranlassung (l. c. *Opera I.* S. 485).

Für unsere Methode wäre die Richtigkeit dieser Vermuthung offenbar vom höchsten Interesse. Denn wenn in wachsenden Sprossgipfeln und Blattstielen, mit alleiniger Ausnahme der Endknospe und der jüngsten angrenzenden Partien, die Turgorkraft über die ganze Länge dieselbe ist, so darf man ohne Weiteres Stücke von 8—10 cm zu den Versuchen nehmen, und das Resultat als völlig zuverlässig betrachten. Würde aber die Turgorkraft in solchen Stücken bedeutende Verschiedenheiten zeigen, so würde man offenbar nur Mittelzahlen bestimmen, und es wäre eine äusserst genaue Musterung des Materiales erforderlich, um eine gleiche Betheiligung der Zonen verschiedenen Alters an dem schliesslichen Resultate zu sichern. Solche Mittelzahlen würden nur bedingten Werth haben.

Eine wichtige Stütze erhält unsere Vermuthung durch die im ersten Theil, Abschn. III, § 2, S. 199—213 beschriebenen Versuche. Hier wurde die Concentration von Salpeter- und anderen Lösungen bestimmt, bei der Kreuzstreifen wachsender Sprossgipfel ihre Krümmung weder verstärken noch vermindern, welche also die gleiche Anziehung auf Wasser ausüben wie das wachsende Markgewebe. Die Kreuzstreifen waren 7 cm lang, und erstreckten sich also in den meisten Fällen über den grössten Theil des wachsenden Sprossgipfels. Wäre nun die Turgorkraft der jüngeren Zonen eine auch nur um 0.02 Aeq. KNO_3 höhere oder geringe als die der älteren Strecken, so müsste sich dieses dadurch verrathen, dass die fragliche Concentration für die älteren Theile eines Kreuzstreifens eine andere war als für die jüngeren Abschnitte desselben Gegenstandes. Dieses war nun in den etwa 80 Versuchen, welche mit zwölf verschiedenen Species angestellt wurden, niemals der Fall, und es darf also als sicher betrachtet werden, dass die Turgorkraft während der zweiten Periode des Wachsthums in solchen Sprossgipfeln wenigstens keine erheblichen Aenderungen erleidet.

Zwei Versuche, welche ich nach unserer jetzigen Methode angestellt habe, bestätigen diese Folgerung. Ich wählte von *Rheum officinale* und *Heracleum Sphondylium* Blattstiele in vier resp. drei möglichst verschiedenen Altersstadien, und zwar von Pflanzen, welche auf demselben Beet unter möglichst gleichen äusseren Bedingungen gleich kräftig gewachsen waren. Für jede Art wurde sämmt-

liches Material an demselben Tage, und zwar Morgens früh, eingesammelt. Die Blattspreiten wurden entfernt und von den Versuchen ausgeschlossen; an den jüngsten Stielen waren sie noch ganz zusammengefaltet, an den ältesten nahezu völlig entfaltet. Neben diesen giebt die Länge und das Gewicht einen Maassstab für das Alter der Stiele ab, und ich habe deshalb diese beiden Grössen in die folgende Tabelle mit aufgenommen. Diese Zahlen sind Mittelzahlen aus den zur Gewinnung jedes einzelnen Saftes genommenen, unter sich möglichst gleichen Stielen, deren auf die jüngeren Stadien selbstverständlich mehr kamen als auf die älteren. Die mit dem Saft zu mischenden Salpeterlösungen differirten nur um 0.01 Aeq. von einander.

Arten.		Alter.	Länge in cm.	Gewicht in Gramm	Trockengew. in %	Salpeterwerth des Saftes.
Rheum officinale	I	sehr jung	12	25.5	3.8	0.21
„ „	II	älter	20	66.5	3.3	0.21
„ „	III	noch älter	24	80.0	3.3	0.215
„ „	IV	nahezu ausgewachsen	32	117.5	3.2	0.215
Heracleum Sphondylium	I	jung	15	8.5	3.1	0.17
„ „	II	älter	32	38.0	3.0	0.165
„ „	III	nahezu ausgewachsen	45	52.0	3.0	0.165

Während die Stiele sich um das Dreifache strecken, und ihr Gewicht um das 4—6 fache zunimmt, bleibt also die Turgorkraft des Zellsaftes so genau dieselbe, wie es unsere Bestimmungen überhaupt nachzuweisen gestatten, denn Differenzen von 0.005 Aeq. Kalisalpeter verdienen keine weitere Beachtung. Zu bemerken ist, dass für die ausgewachsenen Stiele diese Regel nicht gilt; so war die Turgorkraft des Saftes an dem Tage jenes Versuches in einem ausgewachsenen Blattstiel von *Heracleum Sphondylium* = 0.195 Aeq. KNO_3.

Somit ist es gestattet, die ganze wachsende Strecke eines Organes hinter dem Wachsthumsmaximum zu einer und derselben Bestimmung der Turgorkraft zu verwenden.

An die erwähnten Thatsachen knüpft sich eine wichtige Frage. Wenn sich die besprochene Regel allgemein bestätigt, so kann diese Constanz der Turgorkraft offenbar nicht dem Zufall zugeschrieben werden, sondern muss sie durch die Eigenschaften der lebendigen, wachsenden Gewebe bedingt sein. Es fragt sich nun, wie man sich eine solche Beziehung vorzustellen hat. So lange die wachsenden

Organe nicht völlig mit Wasser gesättigt sind, muss sich dieses über ihre einzelnen Theile derart verbreiten, dass es überall wenigstens mit nahezu derselben Kraft festgehalten wird. Es werden demzufolge die wasseranziehenden Kräfte der einzelnen Querzonen eines wachsenden Organes, und vielleicht selbst die verschiedenen wachsenden Theile einer ganzen Pflanze fortwährend das Bestreben haben, etwa vorhandene Differenzen auszugleichen. Und da in wachsenden dehnbaren Geweben die Turgorkraft der ausgepressten Zellsäfte nach S. 244 häufig nur unerheblich von der wasseranziehenden Kraft des ganzen Parenchyms abweicht, so darf man wohl erwarten, dass die beobachtete Gleichheit der Turgorkraft in den verschiedenen Zonen eines wachsenden Organes resp. der wachsenden Organen derselben Pflanze in den erörterten Umständen der Hauptsache nach ihre Erklärung finden wird. Weitere Untersuchungen werden hier ohne Zweifel wichtige Resultate ergeben.

Aeussere Umstände beeinflussen die Grösse der Turgorkraft in wesentlicher Weise, wie leicht aus einer einfachen Ueberlegung hervorgeht. Alles, was die Wasseraufnahme und rasche Volumzunahme der Zellen fördert, wird selbstverständlich durch Verdünnung des Zellsaftes die Turgorkraft herabzusetzen streben, und falls die Production osmotischer Stoffe damit nicht gleichen Schritt halten kann, auch thatsächlich vermindern. Dementsprechend fand ich bei dunklem feuchtem Wetter, und nach regnerischen Tagen, die Turgorkraft merklich geringer, als sie in den gleichnamigen Organen derselben Pflanze nach warmen sonnigen Sommertagen war. Vielfache Erfahrungen hierüber machte ich während der Bestimmungen isotonischer Coëfficienten nach der Methode der Gewebespannung, indem der Einfluss des Wetters hier trotz des zweistündigen Aufenthaltes der Sprosse in Wasser stets deutlich ausgesprochen war (S. 196). Auf einem Beete von *Helianthus tuberosus* sammelte ich ferner nach trockenen Tagen junge Sprossgipfel ein, und bestimmte die Turgorkraft des ausgepressten Saftes zu 0.23. Nun liess ich das Beet während einer Woche täglich begiessen, und demzufolge war bei neu eingesammeltem, sonst möglichst gleichem Material, jener Werth auf 0.18 herabgesunken. Auch bei anderen Pflanzen wechselte jene Grösse je nach dem Wetter.

Rasche Streckung ist also in diesen Fällen mit geringer Turgorkraft, träges Wachsthum mit viel grösserer Affinität des Zellsaftes zu Wasser verbunden. Im ersteren Falle werden die Säfte offenbar

durch die Zunahme des Volumes rasch verdünnt und hält die Production osmotischer Stoffe mit dieser Zunahme nicht gleichen Schritt; bei trägem Wachsthum findet das Umgekehrte statt.

In Uebereinstimmung mit diesen Erfahrungen steht die Thatsache, dass etiolirte Pflanzen häufig eine viel geringere Turgorkraft aufweisen, als die gleichnamigen grünen Organe. So fand ich z. B. diese Kraft für den Saft der jungen Sprossgipfel von etiolirten Keimpflanzen von *Pisum sativum* und *Phaseolus multiflorus* zu 0.17 resp. 0.16, während sie für die entsprechenden im Licht gewachsenen Theile grösser war als 0.23. 1)

Anhang. Ueber die Saugkraft transpirirender Blätter. Unter den vielen Anwendungen, deren die in diesem Paragraphen mitgetheilten Methoden und Erfahrungen fähig sind, möchte ich zum Schlusse Eine als Beispiel hervorheben. Es handelt sich um die Kraft, mit der die Blätter während der Verdunstung Wasser aus den Zweigen an sich ziehen. Diese lässt sich nach der S. 243—244 beschriebenen Methode bestimmen. Man braucht dazu nur die Concentration derjenigen Salpeterlösungen zu ermitteln, in welcher die betreffenden Blätter weder Zu- noch Abnahme ihrer Grösse zeigen. Während diese Kraft in völlig mit Wasser gesättigten Blättern selbstveständlich Null ist, kann sie, wenn bei der Verdunstung die Zellsäfte concentrirter und die Zellhäute weniger gespannt werden, leicht zu einer Grösse von mehreren Atmosphären heranwachsen. Es ergiebt sich dieses aus einer kritischen Betrachtung der auf S. 255 mitgetheilten Tabelle. Dass sie in diesem Falle nicht mittelst eines Manometers gemessen werden kann, wie von älteren Forschern bisweilen versucht wurde, bedarf keiner weiteren Ausführung. 2). Wie auffallende Resultate die Anwendung der plasmolytischen Methode auf Blätter verspricht, lehrte Wiesner in seinen ausführlichen „Studien über das Welken von Blüthen und Laubsprossen" 3), welche Schrift über die ungleiche Saugkraft verschiedener Organe eine Reihe interessanter Beobachtungen enthält.

1) Hiermit erweist sich die früher (*Opera I*, S. 516) von mir vermuthete Beziehung der Pflanzensäuren zu den Erscheinungen des Etiolements als unrichtig, da die Ueberverlängerung nach Obigem nicht einer vermehrten Production von Turgorkraft zugeschrieben werden kann.

2) Eine kritische Behandlung der einschlägigen Litteratur findet sich in Höhnel's bahnbrechender Arbeit „Ueber den negativen Druck der Gefässluft" 1876, S. 1—10. Vergleiche auch dessen Beiträge zur Kenntniss der Luft und Saftbewegungen in der Pflanze in Pringsh. Jahrb. Bd. XII, S. 47.

3) Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss. Wien, Bd. 86, Nov. 1882, S. 220.

Für die Beurtheilung der Wasserbewegung in hohen Bäumen ist es wichtig, zu wissen, dass die Saugkraft der Blätter ohne Zweifel im Stande ist, das Wasser in den Holzwänden weit über Barometerhöhe emporzuheben. Genaue Bestimmungen der Grösse dieser Saugkraft versprechen in manchen Richtungen wichtige Resultate.

Abschnitt II. **Beschreibung der Methode zur Analyse der Turgorkraft.**

Die Analyse der Turgorkraft soll den Antheil anzeigen, den die einzelnen im Zellsaft gelösten Stoffe an dieser Kraft haben, sie soll uns mit anderen Worten lehren, wie die ganze Turgorkraft des Zellsaftes aus ihren einzelnen Factoren zusammengesetzt ist. Um eine solche Analyse ausführen zu können, sind aber, wie bereits in der Einleitung (S. 240) hervorgehoben, die folgenden Daten unerlässlich:

1. Die gesammte Turgorkraft des Zellsaftes.
2. Die quantitative chemische Analyse des Zellsaftes.
3. Die isotonischen Coëfficienten der im Zellsaft gelösten Stoffe.

Die letztere Bedingung ist durch die Ergebnisse des ersten Theiles dieses Aufsatzes erfüllt; die Turgorkraft und die chemische Zusammensetzung des Zellsaftes müssen selbstverständlich für jeden einzelnen Fall ermittelt werden. Die Methode zur Messung der ersteren Grösse wurde im vorhergehenden Abschnitt beschrieben; die chemische Analyse wird nach bekannten Methoden ausgeführt. An dieser Stelle haben wir also nur anzugeben, in welcher Weise aus jenen als gegeben zu betrachtenden Grössen die Zusammensetzung der Turgorkraft aus ihren Factoren berechnet wird.

Diese Berechnung ist eine höchst einfache, und besteht aus folgenden beiden Theilen:

1. Die Berechnung der absoluten Grösse der von jeder einzelnen Verbindung gelieferten Turgorkraft, mit anderen Worten: die Berechnung des Salpeterwerthes.
2. Die Umrechnung dieser Zahlen in Procente der gesammten Turgorkraft.

Die absolute Grösse der von jeder Substanz gelieferten Anziehung zu Wasser wird aber offenbar bestimmt durch das Product aus dem Gehalt des Zellsaftes an jener Substanz und deren isotonischen Coëfficienten. Hat die chemische Analyse jenen Gehalt direct nach Molecülen gegeben, so sind die auf S. 214 namhaft ge-

machten isotonischen Coëfficienten anzuwenden; ist die chemische Zusammensetzung aber in Gewichtsprocenten des Saftes berechnet, so benutzt man die in der Tabelle S. 237 berechneten Salpeterwerthe für einprocentige Lösungen.

Aus mehrfachen Gründen empfehlen sich bei diesen Berechnungen die Salpeterwerthe sehr (vergl. Einleitung des I. Theils, S. 141). Sie sind rein empirische Zahlen, und weisen für jede Flüssigkeit, auch wenn deren Zusammensetzung eine äusserst gemischte, oder gar völlig unbekannte ist, in einfacher Weise die Affinität zu Wasser an, indem sie aussagen, dass diese der Affinität einer Salpeterlösung von dem angegebenen Aequivalentgehalt gleich ist. Die Benutzung der Salpeterwerthe hat ferner den Vortheil, die Vorstellung bei den Berechnungen der Analysen der Turgorkraft wesentlich zu erleichtern, indem es sich ja immer nur darum handelt, jede im Zellsaft gelöste Verbindung in Gedanken durch diejenige Menge Salpeters zu ersetzen, welche dieselbe Anziehung zu Wasser ausübt. Es wird dadurch z. B. die Vorstellung, wie die Turgorkräfte verschiedenartiger Stoffe zu einander addirt werden können, eine sehr bequeme.

Vorzüge der titrimetrischen Analyse. Bei der chemischen Analyse der Zellsäfte zum Zwecke der Analyse der Turgorkraft verdient die Anwendung der volumetrischen Analyse, also speciell der Titrirmethode in mehreren Beziehungen den Vorzug vor der Gewichtsanalyse.

Ueber ihre chemische Vorzüge, ihre bequemere und raschere Ausführung werde ich mich nicht verbreiten, sondern nur zwei Punkte hervorheben, welche sich speciell auf die Analyse der Turgorkraft beziehen.

Nach der Titrirmethode misst man die Körper nach Aequivalenten, welche entweder je einem Molecüle gleich sind, oder deren je zwei oder drei auf ein Molecül kommen.

Man braucht diese Resultate also nur mit dem isotonischen Coëfficienten der betreffenden Substanz (2, 3, 4 oder 5)zu multipliciren und durch den entsprechenden Werth des Salpeters (3) zu dividiren, um die absolute Grösse der Turgorkraft der betreffenden Verbindungen zu kennen. Die Rechnung ist eine äusserst einfache und genaue, während die Anwendung der Salpeterwerthe nach Gewichtspocenten (vergl. die Tabelle auf S. 237) eine viel complicirtere Rechnung bedingt.

Dazu kommt, dass die Umrechnung der an der Bürette abgelesenen Zahlen in Gewichtsprocente für die Analyse der Turgorkraft

gar nicht nöthig ist, da man diese Zahlen ohne Weiteres mit einem bestimmten Factor multiplicirt, um sie in Salpeterwerthe umzuwandeln. Diese Factoren sind so einfache Zahlen, dass man fast sagen kann, *dass man den Salpeterwerth eines Zellsaftbestandtheiles direct an der Bürette abliest.*

Obgleich Jeder diese Factoren leicht aus den isotonischen Coëfficienten ableiten kann, kommt es mir doch zweckmässig vor, die wichtigsten und namentlich die zur Berechnung meiner Beispiele benutzten, hier in eine kleine Tabelle zusammen zu stellen. Ich nehme dabei an,dass jede Bestimmung in 10 CC des Saftes vorgenommen, oder doch auf diese Quantität umgerechnet sei, und es fragt sich nun, mit welchem Factor man die an der Bürette abgelesene Anzahl Cubikcentimeter der zehntelnormalen Titrirflüssigkeit multipliciren muss, um ohne Weiteres den Salpeterwerth des ausgemessenen Körpers zu finden.

Ein Beispiel gehe der Tabelle voraus. Es enthalte ein Saft freie Oxalsäure, und zwar so viel, dass 10 CC des Saftes durch a CC einer zehntelnormalen Kalilösung neutralisirt werden. 10 CC dieser Kalilösung würden einen Gehalt von genau 0.1 Aeq. Oxalsäure anzeigen, a CC also $\frac{a}{10} \times 0.1$ Aeq. Nun ist 1 Molec. $\bar{o}$ [1]) = 2 Aeq. $\bar{o}$, und isotonisch mit $\frac{2}{3}$ Molecül (= Aequivalent) Kalisalpeter. 0.1 Aeq. $\bar{o}$ ist also isotonisch mit $0.1 \times \frac{1}{3}$ Aeq. KNO_3. a CC weisen also einen Salpeterwerth der vorhandenen Oxalsäure von $\frac{a}{10} \times 0.1 \times \frac{1}{3} = \frac{a}{300}$ Aeq. KNO_3 an.

Die zur Neutralisation der Oxalsäure in 10 CC Saft erforderliche Anzahl CC der zehntelnormalen Titrirflüssigkeit, hat man also mit $\frac{1}{300}$ zu multipliciren, um den Salpeterwerth der vorhandenen Säure zu erfahren.

Für die wichtigsten Bestandtheile der meisten Zellsäfte sind nun diese Factoren die folgenden:

Stoffe.	Factoren z. Berechn. d. Salpeterwerthe.
Oxalsäure, Aepfelsäure, Weinsäure	$\frac{1}{300}$
Neutrale Calcium- und Magnesiumsalze dieser Säuren	$\frac{1}{300}$

1) $\bar{o}$ = Oxalsäure.

Stoffe.	Factoren z. Berechn. d. Salpeterwerthe.
Neutrale Kalisalze dieser Säuren	$\frac{1}{150}$
Citronensäure	$\frac{1}{450}$
Neutrales citronensaures Calcium oder Magnesium .	$\frac{1}{450}$
Neutrales citronensaures Kalium.	$\frac{1}{180}$
Kalium, unabhängig von der Art der Bindung . . .	$\frac{1}{300}$
Calcium und Magnesium unabh. v. d. Art d. Bindung	0
Chlornatrium, Chlorkalium, Kalisalpeter	$\frac{1}{100}$
Phosphorsaures Kalium (K_2HPO_4)	$\frac{1}{75}$
Glucose pro 1 CC Fehling'scher Lösung.	1.85 [1])

Mittelst dieser Factoren habe ich stets meine Analysen berechnet; will man nicht nach Salpeterwerthen, sondern direct nach isotonischen Coëfficienten arbeiten, so erhalten die Factoren selbstverständlich die dreifachen Werthe, und werden dadurch noch viel einfacher. Für die zweibasischen Säuren, deren Erdalkalisalze und für das an Säuren gebundene Kalium liest man dann practisch an der Bürette die Affinität zu Wasser ab; man braucht ja nur das Komma zwei Stellen zu verschieben. Doch ist diese Methode der Berechnung, wie bereits hervorgehoben, nicht zu empfehlen.

Für das an Säuren gebundene Kalium habe ich einen besonderen Factor angeführt. Thatsächlich berechne ich in meinen Analysen nicht den Salpeterwerth der pflanzensauren Kalisalze, sondern getrennt den der Säure und den des Metalls. Es ist dieses nach dem dritten Gesetze der isotonischen Coëfficienten gestattet, da der partielle isotonische Coëfficient der Säuren und der Metalle in den Salzen von der Art der Bindung, d. h. von der Natur des Salzes unabhängig ist. Für die organischen Säuren ist er im freien Zustande derselbe wie im gebundenen. Man kann also die gesammte, theils gebundene, theils freie Säure in den Analysen als Eine Grösse

1) Die abweichende Form dieser Zahl rührt davon her, dass die Fehling'sche Lösung, wie bekannt, den Gehalt an Glucose in Grammen und nicht nach Molecülen anweist.

mit dem Salpeterwerth der freien Säure aufführen. Und da die Analysen nicht auszuweisen im Stande sind, in welchem Verhältnisse der verschiedenen Basen mit den vorhandenen Säuren zu sauren und zu neutralen Salzen verbunden sind, so ist es weit einfacher und dem chemischen Befunde entsprechender, einerseits die gesammte Säure, und andererseits die Basen für sich zu berechnen.

Abkürzung der chemischen Analyse. Den wichtigsten Vorzug der Titrirmethode bei der Analyse der Turgorkraft bildet aber die dadurch erlaubte Abkürzung der chemischen Analyse. Darunter verstehe ich das Verfahren, verwandte Körper nicht von einander zu trennen, sondern nur als Gruppe zu bestimmen. Es ist dieses überall da erlaubt, wo die Verbindungen die gleiche Anzahl Aequivalente pro Molecül und ferner denselben isotonischen Coëfficienten besitzen, und wo nicht die speciellen Zwecke der Analyse eine Trennung fordern.

Solche Gruppen auszumessen, ist nun gerade bei der Titrirmethode äusserst leicht, während die Trennung ihrer einzelnen Glieder fast stets eines viel umständlicheren Verfahrens bedarf. So lässt sich z. B. die freie Säure sehr bequem ausmessen, während die getrennte Bestimmung der Aepfelsäure und der Weinsäure eine viel beschwerlichere Operation ist.

Für die Berechnung der Turgorkraft-Analyse ist es nun aber durchaus gleichgültig, ob die in einem Pflanzensafte vorhandene Säure Aepfelsäure oder Weinsäure oder gar ein Gemenge beider nach unbekanntem Verhältnisse ist. Denn der isotonische Coëfficient beider Säuren ist derselbe (2) und beide enthalten im Molecül zwei Aequivalente. Dementsprechend weisen beide in obiger Tabelle auch denselben Factor zur Berechnung auf. Dasselbe gilt für die Oxalsäure.

Ebenso gleichgültig ist es für die Berechnung, ob Kalium allein vorhanden oder zu einem unbekannten Theile von Natrium ersetzt ist. Gleichgültig ist ferner das Verhältniss zwischen Calcium und Magnesium, denn beide nehmen gar keinen Antheil an der Turgorkraft. Gleichgültig ist auch die Natur des reducirenden Zuckers, wenn er nur der Formel $C_6H_{12}O_6$ entspricht oder mit der Glucose ein gleiches Reductionsvermögen besitzt.

Die Messung der Gruppen nach Molecülen resp. Aequivalenten reicht also für die Analyse der Turgorkraft im Allgemeinen aus; die Trennung der Glieder innerhalb der einzelnen Gruppen wird nur bei der Behandlung specieller Fragen geboten sein. Es ist nun der Titrirmethode eigen,die gesammte Aequivalentzahl jeder ein-

zelnen Gruppe leicht und bequem zu messen, während man aus dem nach der Gewichtsmethode bestimmten Werthe für eine solche Gruppe wegen des ungleichen Molecular-Gewichts der einzelnen Bestandtheile noch gar nicht auf die Anzahl der darin vorhandenen Grammmolecüle schliessen darf.

Einige Beispiele von Analysen der Turgorkraft. Um die Einsicht in die obigen methodologischen Erörterungen zu erleichtern und zu vervollständigen, werde ich jetzt an einigen willkürlichen Beispielen zeigen, wie solche Analysen auszuführen und zu berechnen sind, und welche Resultate man im Allgemeinen von ihnen erwarten darf. Einige Bemerkungen über die Bereitung des Saftes und die von mir gewählten chemischen Verfahrungsweisen schicke ich der besonderen Besprechung der einzelnen Versuche voraus.

Die Gewinnung des Saftes geschah in der im vorigen Abschnitt S. 245 ff. beschriebenen Weise; in den meisten Versuchen wurden die Pflanzentheile im frischen Zustand unter die Presse gebracht, in Versuch III und VI vorher im Wasserbade nach S. 245 getödtet. Besondere Versuche lehrten mich, wie bereits hervorgehoben, dass es auf die Zusammensetzung des erhaltenen Saftes keinen merklichen Einfluss hat, ob man den einen oder den anderen Weg einschlägt. Auch lehrten Vorversuche, dass es gestattet ist, die ganze zweite Periode des Wachsthums in Einer Analyse zu behandeln, da während dieser Periode der procentische Gehalt des Saftes an den meisten Inhaltstoffen sich nicht wesentlich änderte. Wo möglich habe ich das Mark von der Rinde getrennt und allein untersucht; in den Fällen, wo ich aber beide getrennt analysirte, zeigte sich in allen wesentlichen Punkten Uebereinstimmung zwischen der Zusammensetzung der beiden so erhaltenen Säfte.

Für die befolgten titrimetrischen Methoden verweise ich auf Mohr's Titrirbuch [1]), dessen Vorschriften ich fast immer genau gefolgt bin. Als Grundlage meiner Titrirflüssigkeiten diente mir Oxalsäure, welche ich durch Umkrystallisiren von Kalium völlig befreit hatte und zu einer zehntelnormalen Lösung auflöste. Hierauf wurden die übrigen Titrirflüssigkeiten gestellt. Im Einzelnen wählte ich folgende Wege.

Als Acidität bezeichne ich die Anzahl CC einer zehntelnormalen Kalilösung, welche zur Neutralisation von 10 CC eines Pflanzensaftes erforderlich sind. Als Indicator wandte ich stets Curcuma-

---

1) Fr. Mohr: Lehrbuch der chemisch-analytischen Titrirmethode, 5. Aufl. 1878.

papier an; die gepulverte Curcumawurzel extrahirte ich mit Aether, um die wasserlöslichen Bestandtheile auszuschliessen, und mit der ätherischen Lösung färbte ich das Filtrirpapier. Obgleich das Curcumapapier eine Tüpfelanalyse erfordert, giebt es doch die schärfsten Resultate; Lackmuss und Phenolphtaleïn geben in den meisten Säften wachsender Pflanzentheile beim Eintröpfeln der Kalilösung einen äusserst langsamen Farbenübergang, sind also zur Ermittelung geringer Mengen von freien Säuren in diesen Säften unbrauchbar.

Die Bestimmung der pflanzensauren Salze geschah nach der Vorschrift Famintzin's, in dessen ausgezeichneter kleiner Abhandlung über das Reifen der Trauben, durch Titriren der kohlensauren Alkalien und der kohlensauren Salze der alkalischen Erden in der Asche. Ich verfuhr dabei folgendermaassen: 10 CC des Saftes wurden im Platintiegel getrocknet, gewogen, vorsichtig eingeäschert und wieder gewogen. Die Asche wurde mit heissem destillirtem Wasser ausgelaugt, und durch ein kleines Filter wurde der Auszug vom ungelösten Theile getrennt. Dem mit den Waschwässern vereinigten Auszuge fügte ich eine bestimmte Anzahl CC einer zehntelnormalen Säure zu, entfernte die Kohlensäure durch Erwärmen und titrirte mit Kalilösung und Phenolphtaleïn zurück. Ist der Neutralisationspunkt erreicht, und nimmt die jetzt durch einen Tropfen Säure entfärbte Flüssigkeit bei anhaltendem Kochen nicht wieder eine violette Färbung an, so war die Kohlensäure völlig vertrieben, sonst sind noch einige weitere Tropfen Säure als Correction zuzusetzen, bis dieser Zustand eintritt. Den in Wasser unlöslichen Theil der Asche habe ich vom durchstochenen Filter in eine Porcellanschale abgespritzt, Tiegel und Filter mit Salzsäure von 1 Aeq. ausgewaschen und diese Flüssigkeit in die erwähnte Schale gebracht. Als die kohlensauren Salze gelöst waren, wurde die überschüssige Salzsäure im Wasserbad entfernt, und die Chloride mit zehntelnormaler Silberlösung und Kaliumchromat ausgemessen. Stets wurde vorher constatirt, dass alle freie Säure vertrieben war, widrigenfalls eine entsprechende Correction angebracht wurde. Da die Chloride und löslichen Phosphate der Asche in den wässerigen Auszug übergegangen, und die kohlensauren Salze des Calciums und des Magnesiums durch die Salzsäure in die entsprechenden Chlormetalle verwandelt sind, weist die Titrirflüssigkeit ohne Weiteres den Ge-

---

1) A. Famintzin: Untersuchungen über das Reifen der Trauben. Vergleiche auch das Referat in der Bot. Ztg. 1860, S. 234.

halt an Calcium und Magnesium an, der im Saft an Pflanzensäuren gebunden war.

Die Methode Famintzin's lässt nur dann mit Sicherheit auf den Gehalt an pflanzensauren Salzen schliessen, wenn Nitrate (und Nitrite) in merklicher Menge nicht vorhanden sind. Ich habe mich also stets überzeugt, dass solches der Fall war; Säfte, welche Nitrate enthielten, wurden entweder von den Analysen ausgeschlossen, oder gerade zur Bestimmung der Turgorkraft der Nitrate gebraucht, und dann in anderer Weise behandelt. Eine bequeme und sichere Methode, sich über den etwaigen Gehalt eines Pflanzentheils an Nitraten ein Urtheil zu bilden, verdanken wir Molisch, [1] der die von Wagner [2] und Anderen ausgebildete Ermittelung mittelst Diphenylamin in die botanische mikrochemische Analyse einführte. Ich habe nun stets nach Molisch Querschnitte und eingetrocknete Tropfen des Saftes mit diesem Reagenz geprüft, und falls ich eine Blaufärbung erhielt, den Saft nach Wagner's Vorschrift stufenweise verdünnt und untersucht, bei welcher Verdünnung noch die letzte Spur einer Reaction eintritt. Daraus liess sich dann der Gehalt an Nitraten wenigstens so genau berechnen, als nöthig war um zu entscheiden, ob er vernachlässigt werden durfte oder nicht.

Kaliphosphat bestimmte ich im wässerigen Auszug der Asche, nachdem die kohlensauren Salze entfernt und gemessen waren, wie folgt. In der auf Phenolphtalein neutral reagirenden Flüssigkeit ist das Phosphat als zweibasisches Salz vorhanden (K_2HPO_4). Fügt man einige CC Kalilösung und etwas Chlorbarym zu und kocht, so fällt die gesammte Phosphorsäure, in der alkalischen Flüssigkeit, als dreibasisches Salz ($Ba_3P_2O_8$) aus. Titrirt man jetzt mit Säure zurück, so bedarf es zur Erreichung des Neutralisationspunktes offenbar genau um so viel CC weniger Säure, wie CC Kalilösung zugesetzt waren, als dem freien Aequivalente des gefällten K_2HPO_4 entspricht. Man hat also diese Differenz mit drei zu multipliciren, um die Phosphorsäure in Aequivalenten anzuweisen; ohne diese letztere Operation giebt die gefundene Zahl das K_2HPO_4 direct nach Grammmolecülen.

Chlornatrium und Chlorkalium bestimmte ich mittelst Silberlösung in dem wässerigen Auszug einer speciell für diese Bestim-

---

1) H. Molisch: Ueber den mikrochemischen Nachweis von Nitraten und Nitriten in der Pflanze. Berichte der deutsch. Botan. Gesellschaft 1883, S. 150.

2) A. Wagner: Erkennung und Bestimmung der Nitrate im Brunnenwasser. Fresenius' Zeitschrift für Chemie, Jahrg. 20, S. 329.

mung sehr schwach geglühten Asche von 10 CC des Saftes. Nur bei Abwesenheit löslicher Phosphate giebt diese Messung scharfe und richtige Resultate.

Glucose wurde mit Fehling'scher Lösung gemessen. Ich nahm in der Regel 10 CC dieser Lösung, verdünnte sie mit Wasser und erhitzte bis zum Kochen. Nun tröpfelte ich 2 CC des Saftes unter Umrühren ein, und titrirte ferner mit einer Invertzuckerlösung von bekanntem Gehalt zurück. Dieses Verfahren hat den Vortheil, dass die Endreaction bei sämmtlichen Bestimmungen dieselbe ist und stets hinreichende Schärfe besitzt.

Uber die Natur der Pflanzensäuren sei ferner folgendes bemerkt. Citronensäure konnte ich in den analysirten Säften, auch wenn solche vorher nicht erwärmt waren, nicht nachweisen. Oxalsäure suchte ich in bekannter Weise mittelst Chlorcalcium, Aepfelsäure durch Vermischen der Chlorcalciumhaltigen, von etwaigem Niederschlage abfiltrirten Flüssigkeit mit dem doppelten Volum Alkohol. Entstand dabei ein Niederschlag, so nahm ich die Anwesenheit von Aepfelsäure an. Bisweilen war auch Weinsäure anwesend, doch braucht man darauf, wie erwähnt, keine Rücksicht zu nehmen, ebenso wenig wie auf das mögliche Vorkommen anderer zweibasischer Säuren. Nur wenn einbasische organische Säuren in erheblichen Mengen vorkämen, wäre ein Fehler in der Berechnung zu befürchten.

Zur Erklärung der Tabellen sei Folgendes bemerkt. In der ersten Spalte sind die Namen der gemessenen Bestandtheile aufgeführt. Es weist hier „Acidität" den ungesättigten Theil der Säure an; „Organische Kalksalze" den Gehalt der Asche an kohlensauren Kalk- und Magnesiumsalzen; „Kalium der organischen Salze" den Gehalt der Asche an kohlensaurem Kalium; die beiden letzteren Grössen sind dem Gehalt des Saftes an den entsprechenden pflanzensauren Salzen gleich zu stellen. Kalk und Magnesium wurden nicht getrennt ermittelt; ihr Antheil an der Turgorkraft ist ohnehin Null. Die Summe dieser drei Zahlen ist dann als „Summe der organischen Säure" aufgeführt. Wie bereits früher erwähnt, gebe ich den Salpeterwerth und den Antheil an der Turgorkraft getrennt für das Kalium und für die gesammte Säure. Die zweite Spalte enthält die an der Bürette abgelesenen Anzahlen CC für je 10 CC Saft; die dritte den daraus berechneten Gehalt des Saftes an den betreffenden Stoffen in Gewichtsprocenten. In der vierten ist aus den Zahlen der zweiten, mittelst der S. 263 gegebenen Factoren, der absolute Salpeterwerth, und daraus endlich in der letzten Spalte der procentische An-

theil an der Turgorkraft berechnet. Die Summe dieser Antheile ist in keinem Versuche = 100, da selbstverständlich die chemische Analyse eines Saftes nie alle Bestandtheile aufweist.

I. *Heracleum Sphondylium.*

Isolirtes Mark eines nahezu ausgewachsenen Blattstieles; das Mark enthielt einzelne zerstreute Gefässbündel und wurde im lebensfrischen Zustande unter die Presse gebracht. Der Saft wurde in einer geschlossenen Flasche durch Erwärmen coagulirt und nach dem Erkalten filtrirt.

Die organische Säure ist vorwiegend Aepfelsäure.

Der Salpeterwerth des Saftes ist 0.22.

Der Antheil der wichtigsten Bestandtheile des Saftes an dieser Kraft war der folgende:

Bestandtheile des Saftes.	CC Titrirflüssigk. pro 10 CC Saft.	Gehalt in Gewichtsprocenten.	Salpeterwerthe.	Procent-Antheil an d. Turgorkraft.
Acidität	0.2			
Organische Kalksalze	2.0			
Kalium der organischen Salze . .	3.9	0.15	0.013	5.9
Summe der Aepfelsäure. . . .	6.1	0.41	0.020	9.1
Glucose	82.0	4.1	0.152	69.1
Chlornatrium	1.4	0.08	0.014	6.4
Summe . . .		4.74	0.199	90.5

II. *Gunnera scabra.*

Isolirtes Mark zweier nahezu ausgewachsener Blattstiele. Mark von einzelnen Gefässbündeln durchzogen, im lebensfrischen Zustande gepresst; der Saft ohne vorheriges Erwärmen filtrirt.

Die organische Säure ist vorwiegend Aepfelsäure. Aus dem eintrocknenden Safte krystallisirte das Chlorkalium in schönen Krystallen heraus.

Der Salpeterwerth des Saftes war für den jüngsten der beiden Stiele (A) 0.12, für den älteren (B) 0.16.

Die Analyse ergab folgende Resultate:

A. *Jüngerer Blattstiel.*

Bestandtheile.	CC Titrirflüssigk. pro 10 CC Saft.	Gehalt in Gewichtsprocenten.	Salpeterwerthe.	Procent-Antheil and. Turgorkraft.
Acidität	4.2			
Organische Kalksalze	1.4			
Kalium der organischen Salze	1.3	0.05	0.004	3.3
Summe der Aepfelsäure	6.9	0.46	0.023	19.2
Glucose	14.0	0.7	0.026	21.7
Chlorkalium	6.2	0.46	0.062	51.7
Summe		1.67	0.115	95.9

B. *Aelterer Blattstiel.*

Bestandtheile.	CC Titrirflüssigk. pro 10 CC Saft.	Gehalt in Gewichtsprocenten.	Salpeterwerthe.	Procent-Antheil and. Turgorkraft.
Acidität	4.2			
Organische Kalksalze	3.0			
Kalium der organischen Salze	1.1	0.04	0.004	2.5
Summe der Aepfelsäure	8.3	0.56	0.028	17.5
Glucose	11.2	0.56	0.021	13.1
Chlorkalium	9.0	0.67	0.090	56.2
Kaliphosphat	0.2	0.01	0.003	1.9
Summe		1.84	0.146	91.2

III. *Rheum officinale.*

Junge, noch weiche, wachsende Internodien von Stengeln, welche bereits 1 m hoch gewachsen waren, deren Inflorescenzen aber noch durch die Scheidenblätter umschlossen waren, wurden nach vorheriger Tödtung gepresst und der Saft filtrirt.

Die organische Säure war vorwiegend Oxalsäure.

Der Salpeterwerth des Saftes war 0.20.

Die Analyse der Turgorkraft ergab:

Bestandtheile.	CC Titrirflüssigk. pro 10 CC Saft.	Gehalt in Gewichtsprocenten.	Salpeterwerthe.	Procent-Antheil and. Turgorkraft.
Acidität	13.2			
Organische Kalksalze	2.2			
Kalium der organischen Salze . .	3.6	0.14	0.012	6.0
Summe der Oxalsäure	19.0	0.85	0.063	31.5
Glucose	46.0	2.3	0.085	42.5
Kaliphosphat	0.9	0.05	0.012	6.0
Summe . . .		3.34	0.172	86.0

IV. *Rheum hybridum.*

Mark von zwei nahezu ausgewachsenen Blattstielen, nach Entfernung der äusseren gefässbündelreichen Rinde. Im Mark verliefen noch einzelne zerstreute Bündel. Das Mark kam lebendig in die Presse, der Saft wurde vor der Analyse nicht erwärmt, sondern sogleich filtrirt. Er war farblos und klar.

Die organische Säure war wohl fast ausschliesslich Oxalsäure.

Der Salpeterwerth des Saftes war 0.22.

Die Analyse der Turgorkraft ergab:

Bestandtheile des Saftes.	CC Titrirflüssigk. pro 10 CC Saft.	Gehalt in Gewichtsprocenten.	Salpeterwerthe.	Procent-Antheil and. Turgorkraft.
Acidität	31.6			
Organische Kalksalze	1.7			
Kalium der organischen Salze . .	3.9	0.15	0.013	5.9
Summe der Oxalsäure	37.2	1.67	0.124	56.4
Glucose	28.0	1.4	0.052	23.6
Kaliphosphat	0.5	0.03	0.007	3.2
Summe . . .		2.25	0.196	89.1

V. *Rochea falcata.*

Das Mark nahezu ausgewachsener Blätter dieser zu den Crassulaceen gehörenden Fettpflanze wurde vom umhüllenden Chlorophyllgewebe getrennt und lebendig gepresst; der Saft konnte ohne vorheriges Erwärmen filtrirt werden. Die Pflanzen waren im Ge-

wächshaus in Töpfen erzogen, die Blätter Nachmittags um zwei Uhr eingesammelt.

Die organische Säure war Aepfelsäure.

Der Salpeterwerth des Saftes war 0.13.

Die Analyse ergab:

Bestandtheile.	CC Titrirflüssigk. pro 10 CC Saft.	Gehalt in Gewichtsprocenten.	Salpeterwerthe.	Procent-Antheil an d. Turgorkraft.
Acidität	4.6			
Organische Kalksalze	10.7			
Kalium der organischen Salze . .	1.2	0.05	0.004	3.1
Summe der Aepfelsäure	16.5	1.11	0.055	42.3
Glucose	16.0	0.8	0.030	23.1
Chlornatrium	1.5	0.09	0.015	11.5
Summe . . .		1.95	0.104	82.0

VI. *Rosa f. hybrida.*

Blumenblätter von Blumen der gefüllten Stammrose, welche sich soeben eröffnet hatten, wurden in geschlossener Flasche im Wasserbade getödtet und lieferten nach Erkaltung einen dunkelrothen, sehr zuckerreichen Saft. In diesem konnte die organische Säure qualitativ nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden, war aber allem Anscheine nach Aepfelsäure, und wurde als solche in Rechnung gebracht.

Der Salpeterwerth des Saftes war 0.27.

Die Analyse ergab:

Bestandtheile des Saftes.	CC Titrirflüssigk. pro 10 CC Saft.	Gehalt in Gewichtsprocenten	Salpeterwerthe.	Procent-Antheil an d. Turgorkraft.
Acidität	2.4			
Organische Kalksalze.	0.8			
Kalium der organischen Salze . .	3.6	0.14	0.012	4.4
Summe der organischen Säure. .	6.8	0.46	0.023	8.5
Glucose	118.0	5.9	0.218	80.7
Summe . . .		6.5	0.253	93.6

Abschnitt III. **Ueber den Antheil der wichtigsten Bestandtheile des Zellsaftes an der Turgorkraft.**

Die im vorigen Abschnitte mitgetheilten Analysen der Turgorkraft, sowie eine Reihe weiterer Analysen, welche ich zur Prüfung und Ausbildung meiner Methode angestellt habe, gestatten einige allgemeine Folgerungen über den Antheil der wichtigsten und allgemeinsten Bestandtheile des Saftes wachsender Zellen an der Turgorkraft, welche ich als eine weitere Empfehlung meiner Methode hier einschalten möchte. Die Ergebnisse sind, der Natur der Sache gemäss, rein statistische; eine Lösung bestimmter physiologischer Probleme soll hier nicht versucht werden. Aber gerade eine solche statistische Kenntniss muss der Anwendung der Methode auf specielle Fälle vorangehen, indem sie eine Einsicht in die allgemeinen Verhältnisse giebt.

In den sieben Analysen des vorigen Abschnittes fällt es sogleich auf, dass stets entweder mehr als die Hälfte oder doch annähernd die Hälfte der Turgorkraft von Einem Bestandtheile geliefert wird, während der übrige Theil über eine grössere Zahl von Factoren vertheilt ist. Aber jener vorwiegend wichtige Körper ist keineswegs bei allen Pflanzen derselbe; bei *Rosa* und *Heracleum* ist er Glucose, bei *Rheum hybridum* Oxalsäure, bei *Rochea* Aepfelsäure, bei *Gunnera* Chlorkalium. Es beruht dieses, wie weitere Versuche mich lehrten, vorwiegend auf erblichen Eigenthümlichkeiten; in den *Rheum*-Arten hat stets die Oxalsäure, bei *Rochea* und ihren Verwandten stets die Aepfelsäure, bei *Heracleum* fast immer der Zucker einen sehr ansehnlichen Antheil an der Turgorkraft.

Bei ferneren Versuchen darf man also eine noch grössere Verschiedenheit in den Ergebnissen unserer Analysen erwarten, und in der That zeigt die Erfahrung, dass die speciellen Anpassungen hier ganz gewöhnlich einen solchen Grad erreicht haben, dass sie die allgemeinen Gesetze gänzlich unkenntlich zu machen streben.

Durch Anwendung unserer isotonischen Coëfficienten auf die Resultate der gewöhnlichen Pflanzenanalysen kann man in vielen Fällen bereits aussagen, welcher Bestandtheil den grössten Theil der Turgorkraft liefern wird; für eine klare Einsicht müssen aber die Säfte von den unlöslichen und organisirten Bestandtheilen getrennt analysirt worden sein.

Was ich bis jetzt mit Sicherheit ermittelt habe, soll nun im Folgenden kurz und übersichtlich dargestellt werden. Ich werde dabei

die wichtigsten Gruppen der im Zellsaft gelösten Körper, den Zucker, die Pflanzensäuren und ihre Verbindungen, und die anorganischen Salze jede für sich behandeln.

Der Antheil des Zuckers an der Turgorkraft. Wir betrachten den Zucker einerseits dort, wo er als Reservestoff abgelagert ist, andererseits in wachsenden Pflanzentheilen.

In dem ersteren Falle wird er, wegen der bedeutenden Anhäufung, wohl immer einen sehr erheblichen Theil der Turgorkraft liefern. Als Beispiel wähle ich das Mark ausgewachsener Blätter von *Agave americana*, in denen bekanntlich Glucose als Nährstoff für das spätere Wachsthum des Blüthenschaftes, während mehrerer Jahre, angesammelt wird. Im ausgepresten Safte des Markes eines solchen Blattes fand ich 2.6 pCt. Glucose, was einer Turgorkraft von 0.097 Aeq. KNO_3 entspricht. Der Salpeterwerth des Saftes war 0.15 Aeq. KNO_3, und also der procentische Antheil der Glucose an der Turgorkraft 64.7 pCt.

Aehnliche Zahlen wird man ohne Zweifel auch in anderen Fällen, und gleichfalls für die übrigen löslichen Kohlenhydrate, wie Rohrzucker und Inulin, finden.

Bemerkung verdient, dass bei der Umwandlung der Glucose in Rohrzucker, wo zwei Molecüle sich zu Einem zusammenlegen, die Hälfte der Turgorkraft verloren geht, während umgekehrt bei der Keimung der Rohrzuckerhaltigen Reservestoffbehälter die Umwandlung von Saccharose in Invertzucker von einer Verdoppelung der Turgorkraft begleitet ist. Es geht dieses ohne Weiteres aus der Thatsache hervor, dass beide Zuckerarten pro Molecül dieselbe Affinität zu Wasser haben. Vielleicht liegt in dieser bedeutenden Herabsetzung der Turgorkraft einer der Vortheile, der die Bildung von Rohrzucker den betreffenden Pflanzen bietet.

In wachsenden Pflanzentheilen ist das Verhalten der Glucose ein äusserst wechselndes. Gar nicht selten lässt sich gerade während der kräftigsten Zellstreckung in ihnen weder makro- noch mikrochemisch Zucker nachweisen. So fand z. B. Detmer [1]), dass während der Keimung des Hanfes keine messbaren Mengen von Zucker angehäuft werden, und Müller-Thurgau bestätigte diese Thatsache [2]). In seinen bahnbrechenden mikrochemischen Studien über den Stoffwechsel in den Pflanzen beobachtete Sachs gar häufig wachsende

1) Detmer: Vergleichende Physiologie des Keimungsprocesses, 1880, S. 337.

2) H. Müller-Thurgau: in den Landw. Jahrbüchern 1882, S. 782.

Sprossgipfel, Blätter und Blattstiele, welche keinen Zucker enthielten. So z. B. bei *Solanum tuberosum*, *Beta vulgaris*, *Zea Mais*, *Ricinus communis*, *Phaseolus vulgaris* u. A. 1). Für Kartoffel, Klee und Zuckerrübe konnte ich diese Thatsache selbst wiederholt und unter verschiedenen Umständen constatiren 2).

Es geht hieraus hervor, das in solchen Fällen der Zucker keinen irgendwie merklichen Antheil an der Turgorkraft hat, dass wachsende Pflanzentheile ihren gesammten Turgor gar häufig durch andere Mittel hervorbringen können, als durch Ablagerung von Glucose in ihrem Zellsaft.

Das andere Extrem bilden unsere beiden Analysen von *Heracleum* und *Rosa*, wo der Antheil der Glucose an der Turgorkraft im nahezu ausgewachsenen Blattstiele resp. in den Blumenblättern zu 69.1 resp. 80.7 pCt. gefunden wurde (S. 270 und 273).

Zwischen diesen beiden Extremen beobachtet man alle denkbaren Uebergänge, von denen ich beispielsweise eine kleine Reihe in folgender Tabelle zusammenstelle. Die Organe sind im kräftig wachsenden Zustande analysirt, es wurde der Salpeterwerth des Saftes und der Gehalt an Glucose in bekannter Weise bestimmt, und hieraus der Antheil der letzteren an der Turgorkraft berechnet.

Arten.	Organe.	Salpeterwerth des Saftes.	Procentgehalt an Glucose.	Salpeterwerth der Glucose.	Proc. Antheil der Glucose an d. Turgorkraft.
Solanum tuberosum . .	Blätter	0.18	0.24	0.009	4.9
Helianthus tuberosus . .	„	0.19	0.4	0.015	7.8
Rheum hybridum . . .	Blattstiel	0.18	0.4	0.015	8.2
Lappa tomentosa . . .	„	0.185	0.9	0.033	18.0
Helianthus tuberosus . .	Sprossgipfel	0.18	1.0	0.037	20.6
Rumex conglomeratus .	„	0.175	1.0	0.037	21.1
Dipsacus fullonum . .	„	0.20	1.3	0.048	24.0
Carum Carvi	Schirmstiele	0.22	1.8	0.067	30.3
Heracleum Sphondylium.	Blattstiele	0.19	2.6	0.096	50.6

Ob in einem Pflanzentheile Zucker abgelagert wird, hängt im Allgemeinen davon ab, ob die Zufuhr ausgiebiger ist, als der Ver-

1) Vergl. zumal Sachs: Ueber die Stoffe, welche das Material zum Wachsthum der Zellhäute liefern, in Pringsheim's Jahrbüchern, Bd. III, S. 222—228 und 243.

2) Beiträge zur speciellen Physiologie landwirthschaftlicher Kulturpflanzen, in Landw. Jahrb., Bd. VI—VIII, 1877—1879.

brauch. Beide sind aber sowohl von inneren als von äusseren Einflüssen abhängig, und es kann daher nicht Wunder nehmen, wenn gleichnamige Organe derselben Pflanze, in demselben Alter, aber an verschiedenen Tagen oder zu verschiedenen Jahreszeiten eingesammelt, einen ganz verschiedenen Gehalt an Glucose aufweisen. Die Ursachen, welche dieses beherrschen, sind in klarer Weise von Müller-Thurgau in seiner oben citirten Abhandlung erörtert.

Bisweilen, aber nicht immer, steigt der procentische Gehalt des Zellsaftes an Glucose, und damit deren Antheil an der Turgorkraft während des Wachsthums regelmässig, wie das Resultat der folgenden Analyse lehrt. Das Material lieferten die (S. 257) besprochenen wachsenden, und ein an demselben Tage von derselben Pflanze entnommener ausgewachsener Blattstiel von *Heracleum Sphondylium.* Neben den dort angeführten Salpeterwerthen des Saftes bestimmte ich auch den Gehalt an Glucose mittelst Fehling'scher Lösung und fand folgendes:

	Alter.	Salpeterwerth des Saftes.	Procent-Gehalt an Glucose.	Salpeterwerth der Glucose.	Procent-Antheil der Glucose an d. Turgorkraft.
I	jung	0.17	1.4	0.052	30.5
II	älter	0.165	1.8	0.067	40.4
III	nahezu ausgewachsen	0.165	2.4	0.089	53.8
IV	ausgewachsen	0.195	2.9	0.107	55.0

Der Antheil der Pflanzensäuren und ihrer Verbindungen an der Turgorkraft. Pflanzensäuren und ihre Verbindungen bilden einen der am Allgemeinsten verbreiteten Bestandtheile der Zellsäfte, ja sie scheinen überhaupt keiner Pflanze zu fehlen. In jugendlichen Pflanzentheilen finden sie sich meist in auffallender Menge in dem Zellsafte im gelösten Zustande vor, und nehmen dann beträchtlichen Antheil an der Turgorkraft. Die Fettpflanzen sind wegen ihres bedeutenden Gehaltes an pflanzensauren, zumal äpfelsauren Salzen in den ausgewachsenen Blättern bekannt, und die Analyse der *Rochea falcata* lehrte uns, dass diese auch hier einen sehr erheblichen Beitrag zur Turgorkraft liefern können.

Besonderes Interesse beanspruchen einerseits jene Pflanzen, deren auffallend stark saure Säfte einen reichlichen Gehalt an Oxalsäure aufweisen, andererseits die in gewöhnlichen wachsenden Sprossgipfeln und Blättern verbreiteten pflanzensauren Salze.

Weitaus die meisten Pflänzen enthalten höchstens Spuren gelöster Oxalsäure oder gelöster oxalsaurer Salze in ihren Säften, doch giebt es einige wenige Gattungen, deren organische Säure fast nur Oxalsäure ist. Als Beispiele hebe ich die verschiedenen Arten der Gattungen *Begonia* und *Rheum* hervor, von welch' letzterer im vorigen Abschnitt zwei Analysen der Turgorkraft mitgetheilt wurden. Bei diesen Pflanzen pflegt die Oxalsäure nur zu einem kleinen Theil an feste Basen gebunden zu sein; ihre Säfte sind also sehr stark sauer. Der procentische Antheil der Oxalsäure und ihrer Salze an der Turgorkraft war im Sprossgipfel von *Rheum officinale* 37.5 pCt., im wachsenden Blattstiel von *Rheum hybridum* 62.3 pCt. und in mehreren anderen Analysen habe ich für die Gattung *Rheum* ähnliche hohe Zahlen erhalten. In einem Blattstiele von *Begonia Rex*, dessen Saft einen Salpeterwerth von 0.12 hatte, war der Salpeterwerth der Oxalsäure 0.051, der des an diese Säure gebundenen Kaliums 0.006. Beide zusammen lieferten also nahezu die Hälfte (47.5 pCt.) der gesammten Turgorkraft. Zu ähnlichen Resultaten führten Analysen der Blattstiele von *Begonia manicata*.

Die Entstehung der Oxalsäure ist allem Anscheine nach von einer ganz bedeutenden Vermehrung der Turgorkraft begleitet. Wir dürfen annehmen, dass sie aus dem den Zellen zugeführten stickstofffreien Nährmateriale, also aus der Glucose, gebildet wird. Ein Molecül Glucose, $C_6H_{12}O_6$, kann nun unter Aufnahme von Sauerstoff im günstigsten Falle drei Molecüle Oxalsäure $C_2H_2O_4$ liefern. Beide Verbindungen haben aber pro Molecül denselben isotonischen Coëfficienten 2, und bei dieser Umwandlung würde die Turgorkraft also im Verhältniss von 1 : 3 zunehmen. Wenn nun auch vielleicht thatsächlich eine so vollständige Umsetzung in der Pflanze nicht angenommen werden darf, so wird man andererseits doch wohl folgern dürfen, dass die Bildung von Oxalsäure aus Glucose von einer wesentlichen Erhöhung der Turgorkraft begleitet ist. In der Production von Oxalsäure besitzen die fraglichen Pflanzen also, allem Anscheine nach, ein ausgezeichnetes Mittel, um mit einem gegebenen Quantum organischer Nährstoffe eine möglichst grosse Turgorkraft darzustellen. Und dass dieses Mittel im Pflanzenreich nur eine so beschränkte Anwendung findet, muss offenbar wenigstens zum Theil seinen Grund darin haben, dass nur unter besonderen Bedingungen das lebendige Protoplasma so ganz bedeutende Mengen einer so starken Säure ertragen kann. Ohne Zweifel bietet die Anhäufung freier Oxalsäure in den Pflanzen ein dankbares Gebiet für weitere Forschungen.

Die Production von Oxalsäure dauert während der ganzen Wachsthumsperiode stetig fort, und zwar häufig der Art, dass der procentische Gehalt des Saftes an diesem Körper annähernd derselbe bleibt, dass also die Volumenzunahme der Zellen nahezu dieser Production proportional ist. Als Beispiel führe ich die vier Blattstiele verschiedenen Alters von *Rheum officinale* an, deren Turgorkraft bereits im I. Abschnitt des zweiten Theiles (S. 258) besprochen wurde. Ich bestimmte für diese Blattstiele die Acidität und den Gehalt der Asche an kohlensauren Alkalien und alkalischen Erden, und berechnete daraus den gesammten Gehalt an freier und gebundener Oxalsäure, mit Ausschluss desjenigen Theiles, der an organische Basen gebunden war. Die Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Blattstiele.	Salpeterwerth des Saftes.	Gesammte org. Säure in Aeq. pro 10 CC Saft.	Salpeterwerth der Säure.	Procent-Antheil an d. Turgorkraft.
I jüngster	0.21	19.7	0.066	31.4
II älterer	0.21	19.6	0.065	31.0
III noch älterer	0.215	19.7	0.066	30.7
IV nahezu ausgewachsener	0.215	19.7	0.066	30.7

Für die Länge und das Gewicht der Stiele vergleiche man S. 258 In allen Stielen war die Säure nur zu $1/4$ bis $1/5$ durch feuerfeste Basen gesättigt. Den an organischen Basen gebundenen Theil der Säure habe ich in diesen Versuchen nicht ermittelt; in einem anderen Versuch mit wachsenden Blattstielen von *Rheum hybridum* fand ich ihn zu 16.0 pCt. (Vergl. S. 283).

Berechnet man aus diesen Zahlen den absoluten Gehalt an freier und an durch feste Basen gebundener Oxalsäure pro Stiel, so tritt die fortwährende bedeutende Production dieser Säure noch klarer hervor.

	Gewicht des Stieles.	Gehalt an Oxalsäure.
I.	25.3 Gramm	0.22 Gramm
II.	66.5 „	0.59 „
III.	80.0 „	0.71 „
IV.	117.5 „	1.04 „

Diese Zahlen beanspruchen keine hohe Genauigkeit; sie sind berechnet, als ob das Gewicht der festen Bestandtheile der Stiele vernachlässigt werden könnte.

Gehen wir jetzt zu der Betrachtung der organischen Säuren in wachsenden Pflanzentheilen im Allgemeinen über, und schliessen wir dabei die Oxalsäure-haltenden Pflanzen von unseren ferneren Erörterungen aus. Zunächst ist hier die Thatsache hervorzuheben, dass in den Säften wachsender Organe die organischen Säuren zum Theil an anorganische, zum Theil aber auch an organische Basen gebunden sind. Ich habe nun diese beiden Theile getrennt der Untersuchung unterworfen, und dabei behufs der Berechnungen angenommen. dass die saure Reaction der Zellsäfte von sauren Salzen fixer Base, namentlich von sauren Kalisalzen herrühren. Ob dem wirklich so ist, ist für unsere Berechnungen, kraft des Gesetzes von den partiellen isotonischen Coëfficienten, offenbar gleichgültig (vergl. S. 220).

Wir fangen mit den Salzen mit anorganischer Basis an. Eine Einsicht in den Antheil dieser an der Turgorkraft junger Organe geben die folgenden Analysen.

Kräftig wachsende Sprossgipfel und Blattstiele, von anhängenden Organen und ausgewachsenen Theilen befreit, wurden in der im vorigen Abschnitt mitgetheilten Weise analysirt. Es waren für je 10 CC des Saftes die in folgender Tabelle zusammengestellten Anzahlen CC der Titrirflüssigkeiten zur Neutralisation erforderlich:

I. *Resultate der titrimetrisch-chemischen Analyse.*

Arten.	Organe.	Acidität in CC	$K_2 CO_3$ in CC	$Mg CO_3$ + $Ca CO_3$ in CC	Summe der org. Säure in CC
Heracleum Sphondylium .	Blattstiel	0.1	5.6	0.5	6.2
Archangelica officinalis .	„	0.8	5.7	1.0	7.5
Heracleum Sphondylium .	„	0.5	6.2	1.2	7.9
Carum Carvi	Sprossgipfel	0.8	8.3	2.7	11.8
Dipsacus fullonum . .	„	1.2	7.5	2.1	10.8
Delphinium azureum . .	„	1.4	8.0	2.0	11.4

Aus diesen Zahlen habe ich den procentischen Gehalt des Saftes an Säure und Kalium und deren absolute Salpeterwerthe berechnet. Die Säure war in allen Fällen vorwiegend Aepfelsäure und wurde als solche berechnet.

II. *Berechnung der absoluten Salpeterwerthe.*

Arten.	Proc.-Gehalt des Saftes an		Salpeterwerthe	
	Säure.	Kalium.	d. Säure.	d. Kaliums.
Heracleum I	0.415	0.218	0.021	0.019
Archangelica	0.503	0.222	0.025	0.019
Heracleum II	0.529	0.242	0.026	0.021
Carum	0.791	0.324	0.039	0.027
Dipsacus	0.724	0.292	0.036	0.025
Delphinium	0.764	0.312	0.038	0.027

Um nun schliesslich hieraus den procentischen Antheil der Säure und des Kaliums an der Turgorkraft zu finden, gebe ich zunächst die Salpeterwerthe der Säfte und berechne aus diesen folgende Tabelle.

III. *Procentischer Antheil an der Turgorkraft.*

Arten.	Salpeterwerth des Saftes.	Procent-Antheil an der Turgorkraft.		
		Org. Säure.	Kalium.	Summe.
Heracleum I	0.19	11.0	10.0	21.0
Archangelica	0.18	13.9	10.5	24.4
Heracleum II	0.17	15.3	12.4	27.7
Carum	0.22	17.7	12.3	30.0
Dipsacus	0.20	18.0	12.5	30.5
Delphinium	0.185	20.5	14.6	35.1

Der Antheil der äpfelsauren Salze an der Turgorkraft wachsender Pflanzentheile wechselte also in diesen Fällen zwischen 21.0 und 35.1 pCt. und war im Mittel 28 pCt. In einer Reihe weiterer Analysen erhielt ich ähnliche Werthe.

Zu bemerken ist aber, dass der Antheil der Pflanzensäuren und ihrer Salze thatsächlich etwas grösser sein kann, wegen der Art der Bereitung der Säfte, welche zur Coagulation des Eiweisses auf 100° C. erwärmt wurden. Falls nämlich im Saft Citronensäure vorhanden ist, fällt sie bei dieser Operation wenigstens zu einem grossen Theile in Verbindung mit Kalk aus, und wird demzufolge nicht in die Analyse aufgenommen.

Die pflanzensauren Salze organischer Basis finden sich vorwiegend in jugendlichen, wachsenden Theilen. Mit zunehmendem Al-

ter verschwinden sie, wenigstens zum grössten Theil, indem die Basen als Nährstoff Verwendung finden. Um sie zu bestimmen, bin ich, nach dem Vorgange Mentschutkin's 1), in folgender Weise verfahren. Es wurde zunächst die Acidität des Saftes genau in derselben Weise, wie in allen übrigen Analysen mittelst zehntelnormaler Kalilauge und Curcumapapier bestimmt. Dann wurde eine neue Portion des Saftes ausgemessen, mit dem vielfachen Volumen Alkohol von etwa 90 pCt. versetzt, einige Tropfen Phenolpthalein als Indicator zugesetzt, und nun mit der genannten Kalilauge titrirt, bis die meist blassgelbe Farbe der Flüssigkeit in roth überschlug. Die Endreaction war stets eine hinreichend scharfe, indem der Uebergang durch 2—3 Tropfen sehr deutlich, und meist schon durch einen einzelnen Tropfen hervorgebracht wurde. Der Alkohol hebt die Wirkung der organischen stickstoffhaltigen Basen auf das Phenolpthalein auf, ebenso wie er auch das Ammoniak unwirksam macht; er erlaubt also die im Saft durch sie gebundenen Säuren zu messen. Ob neben den organischen Basen auch Ammoniak vorhanden war, habe ich nicht ermittelt, sondern, wie die beschriebene Methode ausweist, einfach die Summe der an beide gebundenen Säuren gemessen.

Zur Berechnung der Turgorkraft habe ich nur den partiellen isotonischen Coëfficienten der Säuren, welche ich als zweibasische annahm, benutzt. Ob die Basen selbst zur Erhöhung der Turgorkraft beitragen, ist zwar eine sehr wichtige und der weiteren Forschung sehr zu empfehlende Frage; bis jetzt bin ich aber auf diese nicht eingegangen.

Die folgende Tabelle enthält die erlangten Resultate; und zwar zunächst die Anzahlen CC der zehntelnormalen Kalilauge, welche zur Sättigung von 10 CC des Saftes in gewöhnlicher Weise, resp. nach dem Versetzen mit Alkohol erforderlich waren, sowie die Differenzen beider Zahlen, welche also den Gehalt an durch organische Basen gebundener Säure angeben. Ferner die Salpeterwerthe der Säfte, sowie der organisch-gebundenen Säure, und das Verhältniss beider, oder den procentischen Antheil dieses Theiles der Säure an der Turgorkraft.

Als Versuchsobjecte dienten wachsende Sprossgipfel in einer Länge von 8—10 cm abgeschnitten und entblättert, von *Helianthus tuberosus*, *Cucurbita Pepo* und *Tropaeolum majus*; junge kräftig wachsende Blattstiele von *Rheum hybridum*, *Cynara Scolymus* und

---

1) Mentschutkin: Ber. d. d. chem. Ges. Berlin 1883, XVI, Nr. 3, S. 315—326.

Beta vulgaris saccharifera, junge epicotyle Glieder von *Phaseolus multiflorus*, welche erst 2—6 cm lang waren, und die wachsenden Gipfel junger Keimpflanzen von *Pisum sativum*, in einer Länge von 2—5 cm; letztere wurden ausnahmsweise nicht entblättert.

	Acidität in CC.			Salpeterwerth.		
	Ohne Alkohol.	Mit Alkohol.	Diff.	des Saftes.	der org. geb. Säure.	Anth. an d. Turgorkraft.
I. Sprossgipfel.						
Helianthus tuberosus . .	0.9	6.6	5.7	0.22	0.019	8.6 %
Cucurbita Pepo	1.2	6.0	4.8	0.17	0.016	9.5 %
Tropaeolum majus . .	1.6	8.4	6.8	0.21	0.023	11.0 %
II. Blattstiele.						
Cynara Scolymus . . .	1.4	5.8	4.4	0.17	0.015	8.8 %
Beta vulgaris	2.0	12.4	10.4	0.30	0.035	11.7 %
Rheum hybridum . . .	15.8	25.4	9.6	0.20	0.032	16.0 %
III. Keimstengel.						
Phaseolus multiflorus .	1.8	12.4	10.6	0.18	0.035	19.4 %
Pisum sativum	0.4	12.4	12.0	0.17	0.040	23.5 %

Der Antheil der an organische Basen (und Ammoniak) gebundenen Pflanzensäuren an der Turgorkraft wechselte also in diesen Organen zwischen 8.6 und 23.5 pCt. und war im Mittel aus allen Versuchen 13.6 pCt. Hätte ich die Organe in jüngeren Zuständen analysiren können, so wäre diese Zahl ohne Zweifel noch höher ausgefallen.

Addirt man diese Mittelzahl zu der aus der Tabelle auf S. 281 berechneten (28 pCt.), so erhält man für den mittleren Antheil der an verschiedene Basen gebundenen Pflanzensäuren und ihrer Kalisalze an der Turgorkraft wachsender Organe 41.6 pCt.

Rechnet man dazu die für *Rochea* (45.3 pCt.), *Rheum hybridum* (62.3 pCt.) und *Begonia Rex* (47.5 pCt.) bereits mitgetheilten Ergebnisse, und beachtet man, dass unsere Mittelzahl aus mehreren Gründen etwas zu klein ausfallen musste, so kann man im Allgemeinen sagen, dass die Pflanzensäuren in jugendlichen wachsenden Pflanzentheilen im Mittel nahezu die Hälfte der Turgorkraft liefern. Im ausgewachsenen Zustande treten sie aber in dieser Beziehung ganz wesentlich zurück.

Der Antheil der anorganischen Salze an der Turgorkraft ist häu-

fig ein viel bedeutenderer, als man auf dem ersten Blick erwarten würde. In den meisten Pflanzen sind die Zellen der jugendlichen, wachsenden Organe arm an anorganischen Salzen 1), und erst mit zunehmendem Alter nimmt der Gehalt an diesen Stoffen allmählig zu. Dagegen giebt es bestimmte Gruppen von Gewächsen, welche durch einen ungewöhnlich hohen Gehalt an anorganischen Bestandtheilen gekennzeichnet sind, und in denen diese Verbindungen also einen wichtigen Antheil an der Turgorkraft haben.

Einige Beispiele mögen dieses erläutern.

Anknüpfend an die Tabellen des vorigen Abschnittes, nenne ich zuerst *Gunnera scabra*. In den wachsenden Blattstielen dieser Pflanze führte der Saft etwa ½ pCt. Chlorkalium, und verdankte diesem mehr als die Hälfte (52—56 pCt.) seiner Turgorkraft. In ganz jungen, noch kaum aus ihrer Umhüllung hervorgetretenen Stielen, welche nur etwa 6 cm. lang waren, fand ich im ausgepressten Safte 0.52 pCt. Chlorkalium, also einen nahezu gleich grossen procentischen Gehalt, wie in den fast ausgewachsenen Stielen. Während der ganzen zweiten Periode des Wachsthums, in der die bedeutende Streckung dieser Stiele stattfindet, muss also fortwährend soviel Chlorkalium aufgenommen werden, dass etwa die Hälfte der zu dieser Streckung erforderlichen Kraft mittelst dieses Salzes geliefert wird.

Das Chlor ist den meisten Pflanzen ein entbehrliches Element, und vielleicht würde man auch *Gunnera* ohne Chlorverbindungen erziehen können. Die mitgetheilten Thatsachen lehren also, dass auch solchen Elementen, welche gewöhnlich als entbehrliche betrachtet werden, eine wichtige Bedeutung für das Pflanzenleben zukommen kann.

Aehnliches dürfte für andere Chlorkalium-haltende Pflanzen, sowie für die an Chlornatrium reichen Gewächse des Meeresstrandes und der Salinen gelten. Ihre Vorliebe für einen salzigen Boden hängt vielleicht mit dem Vermögen, das Salz zur Herstellung ihres Turgors zu verwenden, innig zusammen.

Manche Schuttpflanzen häufen in ihren Zellen so bedeutende Mengen Salpeter an, dass dieser aus dem ausgepressten Safte in reichlichen schönen, baumförmigen Krystallgruppen herauskrystallisirt. Es genügt, einzelne Tropfen auf dem Objectglase verdunsten zu lassen, um sich von dieser merkwürdigen Eigenschaft

1) E. Ebermayer: Physiologische Chemie d. Pflanzen, Bd. I, 1882, S. 768 und 770.

zu überzeugen. In solchen Fällen nimmt der Salpeter einen wesentlichen Antheil an der Turgorkraft. In jugendlichen, noch wachsenden Blättern von *Solanum tuberosum* fand ich z. B. im Safte 0.27 pCt. Salpeter. Der Salpeterwerth des Saftes war 0.18, der des darin gefundenen Salpeters 0.027, und also 15 pCt. der ganzen Turgorkraft. Im Marke der wachsenden Sprossgipfel von *Helianthus tuberosus* enthielt der Saft 0.91 pCt. Salpeter. Der Salpeterwerth des Saftes war 0.22, der des darin vorhandenen Salpeters 0.091, oder 41.4 pCt. der ganzen Turgorkraft. Nach Molisch 1) nimmt der Gehalt an Salpeter in den Sprossen von oben nach unten, also mit zunehmendem Alter der Internodien, stetig zu, und wir dürfen also in den älteren Theilen einen noch grösseren Antheil dieses Salzes an der Turgorkraft erwarten. Es wäre interessant, zu erfahren, welche Beziehungen zwischen der Aufnahme des Salpeters einerseits, der Grösse des Turgors und der Geschwindigkeit des Längenwachsthums andererseits obwalten.

Die Phosphate scheinen in wachsenden Pflanzentheilen, nach meinen bisherigen Analysen, nur selten mehr als einige wenige Procente der Turgorkraft zu liefern.

Fassen wir die Ergebnisse dieses Abschnittes kurz zusammen, so lässt sich über *die Analyse der Turgorkraft wachsender Pflanzentheile* folgendes sagen. Einen nie fehlenden Bestandtheil bilden die Pflanzensäuren und ihre Salze, sie liefern in den gewöhnlichen Fällen im Mittel nahezu die Hälfte der Turgorkraft. Ist die Säure Oxalsäure, und in grosser Menge, zum Theil als freie Säure, im Safte angehäuft, so kann dieser Antheil bis auf mehr als 60 pCt. zunehmen. In zweiter Linie steht die Glucose, deren Betheiligung eine äusserst welchselnde ist. Gar häufig fehlt sie den wachsenden Organen, gewöhnlich liefert sie ein Drittel oder weniger der Turgorkraft, in einzelnen Fällen aber auch 50—60 pCt., ja in den Blumenblättern der Rose sogar 80 pCt. Anorganische Salze treten in weitaus den meisten Pflanzen sehr zurück, in besonderen Arten können sie aber bis zur Hälfte der zum Wachsthum erforderlichen Kraft liefern (KCl, NaCl, KNO_3). Schliesslich nehmen organische Verbindungen der verschiedensten Natur je nach Umständen einen grösseren oder geringeren Antheil an der Turgorkraft, sowohl in wachsenden als in ausgewachsenen Organen; ich habe diese aber bis jetzt nur nebenbei berücksichtigt.

---

1) H. Molisch: Ueber den mikrochemischen Nachweis von Nitraten und Nitriten in der Pflanze mittelst Diphenylamin und Brucin. Berichte der deutsch. Bot. Gesellsch. Bd. I, S. 150, 1883.

Während der raschen und bedeutenden Streckung in der zweiten Periode des Wachsthums beruht die stetige absolute Zunahme der Zellsäfte an osmotisch wirksamen Stoffen theils auf eine fortwährende Produktion von organischen Säuren, theils auf eine anhaltende Accumulation von verschiedenen organischen und anorganischen Verbindungen. Nicht selten halten diese Prozesse mit der Volumzunahme der Zellen gleichen Schritt.

Abschnitt IV. **Ueber das Verhältniss von Kalium und Calcium zum Turgor.**

Unter den mannigfachen Anwendungen auf die Erklärung der Lebenserscheinungen der Pflanzen, deren die Gesetze der isotonischen Coëfficienten fähig sind, sei es mir zum Schlusse erlaubt, beispielsweise Eine hervorzuheben. Sie bezieht sich auf die Bedeutung der pflanzensauren Salze für den Turgor.

Die Pflanzensäuren entstehen in den Zellen aus den organischen Nährstoffen, die Basen, mit denen sie sich verbinden, werden von aussen herein in die Zellen geführt. Die Zellsäfte reagiren sauer, die Bildung der Säuren schreitet also ihrer Neutralisation voran. Wir fragen nun, welche Aenderung erleidet die Turgorkraft durch die Aufnahme der Basen und deren Verbindung mit den Säuren?

Aus unseren Gesetzen leitet sich folgende Antwort ab:

1. *In Bezug auf die Bindung der Säuren an Kalium.* Die Affinität der verbreitetsten Pflanzensäuren (Aepfelsäure, Weinsäure, Oxalsäure, Citronensäure) für Wasser ist in verdünnten Lösungen pro Molecül stets 2, die der neutralen Kalisalze der drei ersteren pro Molecül 4, die des neutralen citronensauren Kali's 5. Es rührt diese letztere Differenz daher, dass das citronensaure Kali im Molecül drei Atome Kalium, die anderen Salze aber nur je zwei Atome dieses Metalles enthalten. Für die sauren Salze, wie sie wohl stets zuerst in der Pflanze entstehen, hängt die Affinität zu Wasser von der Zahl der Kali-Atome pro Molecül ab, wie speciell für die beiden sauren citronensauren Kalisalze bewiesen wurde. Und zwar gilt sowohl für die sauren als für die neutralen Salze die Regel, dass der isotonische Coëfficient für jedes einzelne Atom Kali, das pro Molecül aufgenommen wird, um Eine Einheit grösser wird. Die Natur der Säure hat darauf keinen Einfluss, ebensowenig der Umstand, ob das Kalium als erstes, zweites oder drittes Atom in die

Verbindung tritt. Wir dürfen also allgemein die Natur der Säure und die Art der Bindung ausser Betracht lassen, und sagen: *Für jedes aufgenommene und an eine Pflanzensäure gebundene Atom Kalium nimmt die Turgorkraft des Zellsaftes um eine bestimmte, unveränderliche Grösse zu.*

Versuchen wir es, für diese Grösse ein Maass zu finden. Der isotonische Coëfficient der Citronensäure ist = 2, der des sauren citronensauren Kaliums mit einem Atom Kalium im Molecül ($KH_2C_6H_5O_7$) = 3, die Zunahme bei der Aufnahme eines Atoms Kalium also genau gleich der halben Grösse des isotonischen Coëfficienten der Citronensäure selbst. Diese Regel gilt nun allgemein, wie leicht aus unserem dritten Gesetze ersichtlich, und *es wird also die Turgorkraft des Zellsaftes für jedes aufgenommene Atom Kalium genau um halb so viel grösser wie bei der Aufnahme oder der Production Eines organischen Molecüles.* Zwei Atome Kalium liefern also dieselbe Kraft wie Ein Molecül der Aepfelsäure oder einer beliebigen anderen organischen Säure, oder auch wie Ein Molecül irgend einer Zuckerart.

Das Kalium muss also ganz bedeutend zur Erhöhung der Turgorkraft beitragen.

Die Natur der Säure hatte auf diese Berechnung keinen Einfluss. Anders stellt sich aber die Sache, wenn man frägt, wie viel Kalium ein Zellsaft aufnehmen und binden kann, wenn der Zelle eine gegebene Menge organischer Nährstoffe zur Bildung der Säure zur Verfügung steht. Nimmt man an, dass sämmtlicher Kohlenstoff der Glucose in die organischen Säuren übergeht, so liefert ein Molecül Glucose ($C_6H_{12}O_6$) an Säuren und deren neutralen Kalisalzen:

1 Mol.	Citronensäure	$C_6H_8O_7$	oder	$K_3C_6H_5O_7$,
1½ Mol.	Aepfelsäure	$C_4H_6O_5$	oder	1½ × $K_2C_4H_4O_5$,
1½ Mol.	Weinsäure	$C_4H_6O_6$	oder	1½ × $K_2C_4H_4O_6$,
3 Mol.	Oxalsäure	$C_2H_2O_4$	oder	3 × $K_2C_2O_4$.

Unter dieser Voraussetzung verhalten sich die drei ersten Säuren gleich, während die Bildung von Oxalsäure die doppelte Menge von Kalium aufzunehmen gestattet. Dazu kommt, dass bereits die Umwandlung von Glucose in Oxalsäure, falls jene Voraussetzung zutrifft, von einer Zunahme der Turgorkraft im Verhältniss von 1 : 3 begleitet ist (vergl. S. 278). Auch die Bildung von Aepfelsäure und Weinsäure, nicht aber die von Citronensäure, würde eine Erhöhung der Turgorkraft bedingen, wenn die genannte Voraussetzung richtig wäre. So lange hierüber aber noch nicht entschieden werden kann, soll dieser Umstand nicht weiter hervorgehoben werden.

2. *Bindung der Säuren an Calcium oder Magnesium.* Ganz anders verhält sich die Sache, wenn die Pflanzensäuren durch Calcium oder Magnesium neutralisirt werden. Obgleich ich bis jetzt nur wenige derartige Salze untersucht habe, so lassen diese Bestimmungen, im Verbande mit allen übrigen, keinen Zweifel darüber, dass diese Salze genau dieselbe Affinität haben, wie die in ihnen enthaltenen organischen Säuren. Mit anderen Worten: *die Anziehung eines Zellsaftes zu Wasser wird dadurch gar nicht geändert, dass seine freien Säuren durch Calcium oder Magnesium neutralisirt werden.* Diese beiden Metalle tragen also zur Erhöhung der Turgorkraft nicht oder wenigstens nicht in directer Weise bei. Ihre partielle Affinität zu Wasser in ihren Salzen ist = 0 (S. 220). Dementsprechend wurden sie in den Tabellen über die Analysen der Turgorkraft nicht berücksichtigt (S. 263 und 269—273).

Diese aus unseren Gesetzen abgeleiteten Folgerungen bringen nun eine merkwürdige Differenz zwischen dem Verhalten des Kaliums und des Calciums an's Licht. *Das Kalium hat für den Turgor eine sehr hohe, das Calcium gar keine Bedeutung.*

Dieser Satz erklärt nun in sehr einfacher Weise die Verbreitung und die Wanderung dieser beiden Metalle in der Pflanze, wie aus folgender Ueberlegung klar werden wird.

Die Pflanzentheile bedürfen des Turgors vorwiegend in ihrer Jugend, so lange sie noch wachsen. Ist dieses Stadium vorüber, so tritt die Bedeutung des Turgors allmählich zurück. Am raschesten geschieht dieses in den Stengeln; langsam in den Blättern, deren frisches Aussehen häufig noch lange auf Turgescenz beruht. Sehr langsam findet es in Gelenkpolstern statt, welche, wie bei den Gräsern, mit dem Verschwinden des turgescenten Zustandes ihr Bewegungsvermögen einbüssen würden. Aber abgesehen von diesen Fällen beruht die Steifheit ausgewachsener resp. älterer Organe nicht mehr auf Turgor, sondern auf die Festigkeit der Zellhäute, und es ist häufig fast nur noch die Aufnahme von Wasser und die Deckung der durch Verdunstung entstandenen Verluste, für welche der Turgor zu sorgen hat.

Nun findet sich, wie bereits Saussure lehrte, das Kalium vorwiegend in den jugendlichen Organen, während das Calcium um so mehr vorherrscht, je älter der betreffende Theil wird. Zahlreiche spätere Untersuchungen haben diese Regel zu einer der besten empirischen Thatsachen unserer Wissenschaft erhoben, und, wie wir bald sehen werden, durch manche Einzelheiten weiter begründet. Wir folgern also: *Das Kalium findet sich stets gerade dort angehäuft,*

wo seine bedeutende Turgorkraft der Pflanze von Nutzen ist, das Calcium dagegen dort, wo der Turgor anderen Functionen gegenüber zurücktritt.

Bevor wir diese Betrachtungen weiter verfolgen, wollen wir die wichtigsten Thatsachen, welche sich durch diesen Satz unter einen gemeinschaftlichen Gesichtspunkt bringen lassen, kurz vorführen.

Kalium und Calcium in den niederen Pilzen. Ein Blick auf die Aschenanalysen der Pilze lehrt [1]), dass diese Gewächse auffallend reich an Kalium, aber sehr arm an Calcium sind. Nimmt man den Birkenschwamm aus, so wechselt der Gehalt an Kali in der Asche zwischen 17.9 und 54,2 pCt., der des Kalkes zwischen 0.75 und 4.95 pCt. Es weist dieses darauf hin, dass das Kalium eine hohe Bedeutung für das Leben dieser chlorophylllosen Gewächse hat, und wir werden wohl annehmen dürfen, dass solches mit dem Antheil zusammenhängt, den es an ihrer kräftigen Turgescenz und dadurch an ihrem raschen Wachsthum haben muss.

Das Calcium, welches zu diesem Turgor nicht beiträgt, gehört nicht zu den für das Leben der niederen Pilze unumgänglichen Elementen. In künstlichen Nährlösungen lassen sich die verschiedensten niederen Pilze in völlig normaler Weise erziehen, auch wenn diese keine Spur von Calcium enthalten. Pasteur, der zuerst die Methode solcher Culturen begründete, lehrte, dass die Asche der Hefe, welche nahezu ganz aus Kali, Magnesia und Phosphorsäure besteht, und nur Spuren von Kalk enthält, für alle niederen Pilze als Quelle der Aschenbestandtheile in den Culturen genügt [2]). Raulin [3]), der in einer augedehnten Untersuchung den Einfluss der verschiedensten nützlichen und schädlichen Substanzen auf *Aspergillus glaucus*, in künstlichen Nährlösungen wachsend, studirt, fügte diesen Lösungen nie Kalkverbindungen zu; der *Aspergillus* wächst ohne Calcium ebenso üppig wie mit Calcium. Durch zahlreiche Culturen habe ich mich selbst von der Richtigkeit dieses Resultates überzeugt.

In die fundamentalen, allen Pflanzen gemeinsamen Lebenserscheinungen der Zellen greift also das Calcium nicht ein; es muss, wie das Eisen, eine Bedeutung nur für specielle, sei es auch weit

---

1) Wolff — Aschenanalysen, S. 134 — theilt 14 Analysen von Aschen von Pilzen mit.

2) Pasteur: Ann. Chim. Phys., 3. Série, T. 58, p. 383; ibid. 3. Série, T. 64, p. 107.

3) Raulin: Ann. sc. nat., 5. Série, T. XI (1869) S. 93—287. Man vergl. auch Nägeli: Sitzungsber. d. k. bayr. Akad. d. Wiss. 1880, Heft 3, S. 340.

verbreitete Zwecke haben. Der Turgor ist eine solche allgemeine Eigenschaft wachsender Zellen, und der oben aufgestellte Satz erklärt uns also, wenigstens in der Hauptsache, das verschiedene Verhalten des Kaliums und des Calciums in den niederen Pilzen.

Manche höhere Gewächse, wie z. B. die Gräser, enthalten so wenig Kalk in ihrer Asche, dass man schon nach dieser Erfahrung dem Calcium in ihnen keine hervorragende Rolle zuschreiben darf.

Kalium und Calcium in den wachsenden Organen höherer Pflanzen. Je jünger man wachsende Organe der Analyse unterwirft, um so reicher zeigt sich im Allgemeinen ihre Asche an Kalium, um so ärmer an Calcium. Aber schon während der zweiten Periode des Wachsthums nimmt der Gehalt an Kalk allmählig zu, wenn dieses Element wenigstens von Aussen, resp. aus älteren Organen derselben Pflanze aufgenommen werden kann. Solche Analysen, in denen die einzelnen Wachsthumsstadien nicht getrennt sind, sind also für unseren speciellen Zweck nur von untergeordneter Bedeutung.

Garreau lehrte, dass die Zusammensetzung der Asche aller sehr jugendlichen Pflanzentheile annähernd dieselbe ist [1]), und belegte diesen Satz durch zahlreiche eigene Analysen und eine kritische Zusammenstellung der Resultate anderer Forscher. Die Cotyledonen, die Plumula und Radicula ruhender Samen, jedes getrennt analysirt, die Samen ohne Samenschale, oder bei solchen Arten wo letztere sehr dünn ist, auch die ganzen Samen, jugendliche Blätter und Sprosse aus Knospen, welche sich soeben geöffnet hatten, Wurzelfibrillen, und endlich Sporen von Cryptogamen und Pollenkörner stimmen in dieser Beziehung in auffallender Weise überein. Als Typus für diese alle kann man die Zusammensetzung der Hefenasche ansehen, welche, nach einer Analyse von Mitscherlich 39.5 pCt. Kali, 1.01 pCt. Kalk, 6.05 pCt. Magnesia, 53.84 pCt. Phosphorsäure und Spuren von Schwefelsäure aufwies [2]). In den Samen steigt der Gehalt an Kali in der Asche nicht selten bis 45 pCt. und mehr, dagegen fällt der der Phosphorsäure oft auf 35 bis 40 pCt. Aber stets bilden Kali und Phosphorsäure weitaus den Hauptbestandtheil der Asche (80—90 pCt.), und von dem Reste fällt der grösste Theil auf die Magnesia. Der Kalk spielt hier stets eine sehr untergeordnete Rolle (1—6 pCt. der Asche).

Die erwähnten, jugendlichen Organe enthalten aber die zu dem eigenen späteren Wachsthum erforderlichen Elemente in mehr oder weniger vollständiger Weise. Für die Samen geht dieses ohne Wei-

1) Garreau: Ann. sc. nat., 4. Série, T. XIII, 1860, p. 173—179.

2) Wolff: l. c. p. 134 und Garreau: l. c. p. 176.

teres daraus hervor, dass sie das ganze Keimungsstadium durchlaufen können, auch wenn man sie nur destillirtes Wasser aufnehmen lässt. In diesem Falle entwickelt die Keimpflanze ihren ganzen, so bedeutenden Turgor ohne irgend welche merkliche Betheiligung des Calciums, von dem selbst noch ein wesentlicher Theil in den Cotylen in unlöslicher Form zurückbleibt.

Für die wachsenden Theile wurde, wie bereits oben erwähnt, der grosse Reichthum der Asche an Kali schon von Saussure entdeckt. In einem der neuesten Werke über die physiologische Chemie der Pflanzen fasst Ebermayer [1]) die Resultate älterer und neuerer Forschungen in folgender Weise zusammen. Stets sind jugendliche, wachsende Organe in ihrer Asche viel reicher an Kali, als ältere. So sind z. B. Knospen, junge Triebe, junge Blätter, grüne Stengel, junge Zweige, die inneren jungen Rindenschichten, das Cambium und ganze junge Pflanzen reicher an Kalium (und Phosphorsäure) in der Asche, als die gleichnamigen älteren Theile. Die Blätter sind die kalireichsten Organe der Pflanzen, und zwar enthalten sie um so mehr Kalium, je jünger sie sind. Reich an Kalium sind ferner die Samen, viele Früchte, Knollen, Zwiebeln und andere an Kohlenhydraten reiche Reservestoffbehälter.

Die Gelenkknoten des Weizens sind nach I. Pierre stets reicher an Kali in ihrer Asche, als die angrenzenden Internodien und Blätter [2]). Wenn aus diesen mit zunehmendem Alter das Kalium verschwindet, bleibt es in den Knoten in nahezu unveränderter Menge. Die Steifheit der Knoten beruht aber auf die Turgescenz ihrer Zellen, die der Internodien und Blätter auf die Festigkeit der Zellhäute.

Ueberall, wo kräftiges Wachsthum vorbereitet wird, resp. thatsächlich stattfindet, tritt also das Kalium unter den Aschenbestandtheilen in den Vordergrund, während das Calcium nur spärlich vertreten ist. Dass dabei die verschiedene Bedeutung dieser beiden Elemente für die Turgorkraft eine maassgebende Rolle spielt, wird also keinem Zweifel ausgesetzt sein.

Kalium und Calcium in älteren Organen. Mit zunehmendem Alter verschwindet das Kalium allmählig aus den einzelnen Organen der Pflanzen, während das Calcium immer weiter angehäuft wird. Tritt endlich der Tod ein, so ist das Kalium nahezu vollständig fortgeschafft, während das Calcium dann gerade in der grössten Menge

1) E. Ebermayer: Physiologische Chemie der Pflanze, Bd. I, Bestandtheile der Pflanzen, 1882, S. 770 ff.

2) Isidore Pierre: Annales agronomiques, 2. Bd., 1876, p. 59—72; Bot. Jahrb. IV, S. 893.

vorhanden ist. Abgefallene Blätter sind z. B. äusserst reich an Kalk, sehr arm an Kali, und dasselbe gilt für die äusseren Partien der Baumrinde, und für ganze einjährige Pfanzen nach eingetretener Samenreife.

Das Kalium wird den älteren Theilen entnommen, um den jungen, noch wachsenden zugeleitet zu werden. Der Boden ist relativ arm an Kaliverbindungen, die Pflanze findet davon selten mehr vor, als sie braucht, sie ist mit dem Kalium desshalb äusserst sparsam, wendet dieselbe Menge nach und nach zur Ausbildung ihrer verschiedenen Organe an, und häuft schliesslich nahezu ihren ganzen Vorrath in ihre Samen oder sonstige Reservestoffbehälter an, um sie einer folgenden Generation zur Verfügung zu stellen, oder sie im nächsten Jahre selbst wieder benutzen zu können.

Genau entgegengesetzt verhält sich das Calcium, die Pflanze wendet so zu sagen alle nur denkbaren Mittel an, um sich von diesem Elemente möglichst vollständig zu befreien. Fast alle Boden enthalten Kalkverbindungen im Uebermaass, und nur wenige Pflanzen, wie die Gräser, sind im Stande, die Aufnahme von Kalk aus dem Boden ganz wesentlich zu beschränken. Die meisten enthalten davon weit mehr als sie brauchen, und müssen ihn also möglichst unschädlich machen.

Am klarsten tritt das verschiedene Verhalten des Kaliums und des Calciums an's Licht, wenn man den Gehalt an diesen beiden Bestandtheilen auf ein einziges, resp. auf dieselbe Zahl von gleichnamigen Organen, z. B. pro Blatt, berechnet, und nicht, wie üblich, auf das Gewicht der Asche oder der Trockensubstanz bezieht. Rissmüller berechnete in dieser Weise seine bekannten Analysen der Buchenblätter 1). Aus seiner Tabelle geht hervor, dass der Gehalt eines mittleren Blattes an Kali bis Mitte Juli zunimmt, von dieser Zeit ab aber bis zum November, also bis zum Tode der Blätter, stetig fält. Aehnliches gilt für die Phosphorsäure und die Magnesia, welche beide ihr Maximum im August erreichen, während die Menge des Kalkes bis in den November hinein ganz bedeutend grösser wird. Eine vollständige Entleerung des Kaliums fand nicht statt.

Mit den Blättern anderer Bäume erhielten Fliche und Grandeau 2) und Corenwinder 3) übereinstimmende Resultate. Das Verschwin-

1) Rissmüller: Landw. Versuchsst., Bd. XVII, 1874, S. 31.

2) Fliche et Grandeau: Ann. Chim. et Phys., 5. Série, T. VIII, p. 486 bis 511, 1876.

3) Corenwinder: Ann. sc. nat. 1878, 6. Série, T. VI, p. 305.

den des Kaliums und die Anhäufung des Kalkes in den vegetativen Organen krautiger Pflanzen wurde von Boussingault für den Klee, die Rübe und den Kohl, und von zahlreichen Forschern für die Getreidearten dargethan 1). Eine äusserst ausgedehnte, inhaltsreiche Literatur ist allmählig über diesen Gegenstand entstanden, und die Thatsache selbst dadurch über allen Zweifel erhoben.

Einer so allgemeinen Erscheinung muss irgend eine wichtige physiologische Ursache zu Grunde liegen, und die verschiedene Bedeutung der beiden fraglichen Elemente für Turgor und Wachsthum dürfte dabei eine sehr wesentliche Rolle spielen 2).

Welche Ursachen bedingen die Anhäufung des Kaliums in den wachsenden Organen? Wir haben nun die wichtigsten Thatsachen über die Verbreitung und die Wanderung des Kaliums und des Calciums in der Pflanze in möglichst gedrängter Form zusammengestellt, und uns dadurch überzeugt, das ersteres Element vorwiegend in solchen Organen auftritt, wo der Turgor eine Hauptrolle spielt, während letzteres gerade in älteren und absterbenden Theilen angehäuft wird. Die Erfahrung ist also mit ihrer verschiedenen Bedeutung für den Turgor durchaus im Einklang. Jetzt können wir den früheren Faden wieder aufnehmen, und unsere Betrachtungen über diese beiden Elemente forsetzen.

Fragen wir nach den Ursachen, welche die Anhäufung des Kaliums in wachsenden Theilen bedingen, so sind diese uns in ihrem innersten Grunde durchaus unbekannt. Doch leuchtet es ein, dass diese Aufnahme, wenigstens in erster Instanz, durch die Pflanzensäuren vermittelt wird.

Wir wissen, dass die Kaliumsalze der Schwefelsäure, der Phosphorsäure und der Salpetersäure, welche die Pflanzen durch ihre Wurzeln aufnehmen, irgendwo in ihrem Innern derart zerlegt werden, dass die Säuren den eiweissbildenden Geweben, das Kalium aber den jugendlichen Parenchymzellen zugeführt werden. Wir folgern dieses aus der Thatsache, dass wir das Kalium in jenem Parenchym an die Pflanzensäuren gebunden zurückfinden, die Elemente jener anorganischen Säuren aber, den Schwefel, den Stick-

1) Vergl. Corenwinder: Ann. sc. nat. 1860, 4. Série, T. XIV, p. 39 ff.

2) Ich behaupte keineswegs, dass die einzige Bedeutung des Kaliums für das Pflanzenleben in seiner Betheiligung am Turgor zu suchen sei, und ebensowenig, dass der Turgor wachsender Pflanzentheile vorwiegend vom Kalium vermittelt würde. Die Thatsache, dass das Kalium in rasch wachsenden Organen etwa 10—15 pCt., in nahezu ausgewachsenen nur etwa 3—6 pCt. der Turgorkraft liefert, würde damit in Wiederspruch stehen (S. 281 und S. 269—273).

stoff und den Phosphor, am Aufbau der eiweissartigen Verbindungen sich betheiligen sehen. Wie und wo die Zersetzung vor sich geht, wissen wir nicht. Nun ist es aber eine auffallende Thatsache, dass dasjenige Gewebe, dem die Säuren zuströmen 1) alkalisch 2), dasjenige aber, dem das Kalium zugeht, sauer reagirt. Offenbar muss die Aufnahme der fraglichen Bestandtheile in beiden Fällen durch diesen Umstand begünstigt werden, denn jedes eintretende Atom wird sofort an Säure resp. Basis gebunden, was auf die Aufnahme weiterer Theilchen nach bekannten Diffusionsgesetzen nur günstig wirken kann. 3)

Diese Betrachtungen weisen also den Pflanzensäuren eine wichtige Rolle bei der Aufnahme des Kaliums in jugendliche, wachsende Pflanzentheile zu. Hieraus ergiebt sich aber ferner ein Theil ihrer Bedeutung für den Turgor, denn sie sind es, mittelst deren die Pflanze die grosse Affinität zu Wasser, die das Kalium seinen Verbindungen mittheilt, für ihre eigenen Bedürfnisse verwerthen kann.

Die Pflanzensäuren der jugendlichen Zellen müssen aber auch auf den durch die Wurzeln aufgenommenen Kalk eine Anziehung üben, zumal wenn dieser, an Phosphorsäure und Schwefelsäure gebunden, in die Pflanze drang, und diese Säuren zur Eiweissbildung verwendet werden 4). Die Aufnahme von Kalk, seitens der jugendlichen Zellen, würde nun für den Turgor nichts nützen, dagegen

---

1) Sachs: Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, 1882, S. 392.

2) Sachs: Ueber saure und alkalische Reaction der Säfte lebender Pflanzenzellen. Bot. Ztg. 1862, S. 257.

3) In derselben unbekannten Weise zerlegen manche Pflanzen die Kaliumsalze der Kieselsäure, welche sie aus dem Boden aufnehmen; das Kalium wird mit den Pflanzensäuren der wachsenden Zellen verbunden, und die Kieselsäure unthätig in den älteren Organen abgelagert. Es wäre interessant, zu erfahren, ob die sogenannten Kieselpflanzen gerade durch das Vermögen, einen Theil des für den Turgor nothwendigen Kaliums den Silicaten des Bodens zu entnehmen, vor anderen ausgezeichnet sind, und ob die abgelagerte Kieselsäure nur als Schlacke dieses Processes zu betrachten ist. Ebenso dürften die Kalkpflanzen die Vortheile, welche sie vor anderen auf dem ihnen zusagenden Boden in so auffallender Weise besitzen, vielleicht zum Theil einem stark entwickelten Vermögen, die zur Eiweissbildung erforderlichen anorganischen Säuren aus deren Kalksalzen zu befreien, verdanken. Diese Fragen, welche ich hier nur andeuten kann, scheinen mir bei experimenteller Behandlung wichtige Resultate zu versprechen. Eine solche Behandlung hätte zunächst zu entscheiden, ob, wie es den Anschein hat, das Vermögen um Silicate resp. Kalksalze zu zerlegen, bei verschiedenen Pflanzenspecies in auffallend verschiedener Weise ausgebildet ist.

4) Holzner: Flora 1864, S. 273.

würde sie durch Neutralisation der Säuren, die Aufnahme von Kalium bedeutend erschweren. In dieser Beziehung muss das Calcium als ein schädliches Element betrachtet werden, und dieses gilt um so mehr, als der Boden stets relativ reicher an Kalk, wie an Kali ist, und die Pflanzen erstere Base nur zu leicht in Uebermaass aufnehmen können.

Nur wenige Pflanzen besitzen, wie die Gräser, das Vermögen, die Aufnahme von Kalk durch ihre Wurzeln wesentlich zu beschränken. Und wären in den übrigen Pflanzen keine Vorrichtungen vorhanden, um dem Uebergange des einmal aufgenommenen Kalkes in die jüngsten Organe entgegen zu arbeiten, so würden wahrscheinlich doch die Säuren vorwiegend durch diese Base und nur zum kleinen Theile durch Kali neutralisirt werden. Wir dürfen derartige Einrichtungen also ganz allgemein im Pflanzenreich erwarten.

Solche Einrichtungen finden sich nun unter sehr verschiedenen Formen, welche sich aber in zwei Gruppen unterordnen lassen. Einmal wird der Kalk in löslicher Form, das andere Mal im festen Zustande abgelagert. 1)

In löslicher Form häuft er sich, an Pflanzensäuren gebunden, wohl ganz allgemein im Zellsaft der ausgewachsenen, zumal der älternden Organe ab. Wie wir bereits gesehen haben, ersetzt er hier allmählig das Kali, welches hier fortwährend fortgeschafft wird, um den neuen wachsenden Theilen zuzuströmen. Wie es kommt, dass dieselben Säuren, welche während der Jugend Kali aufnahmen, im Alter das Kali gegen die schwächere Base Kalk austauschen, muss einstweilen dahingestellt bleiben.

In unlöslicher Form wird der Kalk theilweise in den Zellhäuten und Cystolithen, theilsweise als oxalsaurer Kalk abgelagert. Das ganze Auftreten des oxalsauren Kalkes, seine Verbreitung in den Geweben, seine Anhäufung in besonderen Zellen und an solchen Orten, wo er dem Stoffwechsel möglichst entzogen ist, endlich die Thatsache, dass er, einmal ausgeschieden, fast nie wieder aufgelöst wird — dieses Alles beweist zur Genüge, dass es sich um die Entfernung eines überflüssig aufgenommenen Stoffes handelt, dessen Anhäufung in bestimmten Zellen leicht schädlich werden könnte. Und welcher Art dieser Schaden ist, geht nun aus unseren obigen Erörterungen klar hervor: es handelt sich wohl darum, die jugendlichen, turgescirenden und rasch wachsenden Organe gegen die

---

1) Ueber die Bedeutung der Kalkablagerungen in der Pflanze. Landw. Jahrbücher Bd. X. 1881, S. 53.

Neutralisation ihrer Säuren durch Kalk möglichst zu schützen, und ihnen dadurch die Aufnahme von Kalium, und damit die Erhöhung ihrer Turgorkraft durch dieses Metall, zu ermöglichen.

Alles, was bis jetzt über die Vertheilung und die Wanderung des Kaliums und des Calciums in der Pflanze, und über die Ablagerung des letzteren Metalles in fester Form bekannt war, lässt sich also in ganz einfacher Weise aus den partiellen isotonischen Coëfficienten dieser beiden Elemente in ihren Salzen, und ihre dadurch bedingte, so sehr verschiedene Bedeutung für den Turgor erklären. Das Kalium erhöht die Turgorkraft der Säuren bei der Neutralisation, das Calcium vermag dies nicht. Dass hiermit die Frage nach den physiologischen Functionen dieser beiden Elemente keineswegs erschöpfend beantwortet ist, davon bin ich mir völlig bewusst; jedoch hoffe ich zu ihrer Beantwortung einen neuen Gesichtspunkt eröffnet zu haben.

Amsterdam. Nov. 1883.

(*Pringheim's Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik 1884, Bnd. XIV, Heft 4, S. 427.*)

EEN NIEUW ORGAAN VAN HET PLANTAARDIG PROTOPLASMA.

Voor een viertal jaren wees Hanstein in zijne voordrachten over het protoplasma als drager der levensverrichtingen in planten en dieren er op, dat aan dit allerbelangrijkste deel der cellen eene veel grootere zelfstandigheid toekomt, dan daaraan gewoonlijk werd toegeschreven. Men beschouwde het protoplasma algemeen als eene slijmerige, de celholte min of meer volkomen vullende zelfstandigheid, was dikwijls in het onzekere, of men het geheel of ten deele voor een dikke vloeistof moest houden, en beschreef de anatomische elementen, die men er in waarnam, eenvoudig als dichtere deelen van een meer bepaalden vorm. Hanstein daarentegen sprak de overtuiging uit, dat aan elk zoogenaamd protoplasma-lichaam, elk door een eigen celwand omsloten „klompje" van protoplasma, gelijk men het niet zelden hoorde noemen, een eigen individualiteit toekwam, dat elk zoodanig deel alle aanspraak heeft om als een in zich zelf besloten geheel met bepaalde morphologische en physiologische eigenschappen beschouwd te worden. Elk protoplasma-lichaam is voor hem een individu, een organisme, en ten einde dit denkbeeld ook in den naam uit te spreken, stelt hij voor, daaraan den naam van „protoplast" te geven. Bijzonder gelukkig gekozen, zal dit woord ongetwijfeld allengs meer en meer ingang vinden, en de onbeholpen uitdrukkingen van protoplasma-lichamen, protoplasma-klompen, of wat nog veel erger was, van druppels protoplasma langzamerhand uit de wetenschap doen verdwijnen met al de onheldere voorstellingen, die zij bij eerstbeginnenden, en somwijlen zelfs bij meergevorderden deden ontstaan. Mohl's protoplasma is de levende stof, de stof waaraan het leven gebonden is; dit begrip is, als men zich zoo mag uitdrukken, van scheikundigen aard. De anatomische en morphologische behandeling heeft daarentegen te doen met de bepaalde, in zich zelve afgeronde voorwerpen, die uit deze stof zijn opgebouwd, en die wij daarom met Hanstein protoplasten willen noemen.

Het denkbeeld, dat elke protoplast een klein organisme is, en dat door de vereeniging van tallooze zulke kleine organismen eerst de geheele hooggedifferentieerde plant ontstaat, geeft aan onze

voorstellingen over de protoplasten een meer bepaalden vorm, het ontneemt daaraan het vage en onzekere, dat haar tot nu toe steeds aankleefde. Elk organisme bestaat uit organen, en meer en meer is in de laatste jaren gebleken, dat dit in gelijke mate ook van de protoplasten geldt. De celkernen en de chlorophylkorrels werden terstond als zulke organen erkend, die, opgebouwd uit dezelfde stof als de geheele protoplast, bepaalde functiën in het organisme te vervullen hadden. Ook andere functiën van het protoplasma bleken meer en meer aan bepaalde organen gebonden te zijn. De ontdekking der zetmeelvormers of amyloplasten baande hier den weg. Reeds wist men uit de onderzoekingen van Nägeli en Hofmeister, dat de zetmeelkorrels uitsluitend in het levend protoplasma zelf ontstaan, dat zij nooit in het celvocht, dus buiten rechtstreeksche aanraking met de levende stof gevormd worden. Mogen zij al enkele malen in dit celvocht worden aangetroffen, groeien kunnen zij daarin niet, daartoe is de onmiddellijke medewerking van het protoplasma noodzakelijk. Doch de beide genoemde onderzoekers hadden omtrent de plaatsen, waar de zetmeelkorrels ontstaan, geen verder licht verspreid, integendeel zij meenden, dat dit ontstaan overal in het protoplasma kon plaats grijpen, behalve in de groene cellen, waar het klaarblijkelijk tot het inwendige der bladgroenkorrels beperkt is.

De onderzoekingen van de allerlaatste jaren hebben hieromtrent tot een geheel andere uitkomst geleid. Denecke, Schimper, Arthur Meijer, Strasburger en anderen ontdekten, dat aan elke zetmeelkorrel een bepaald orgaan van het protoplasma kan worden waargenomen. Dit orgaan, van grootere dichtheid, doch uit dezelfde stof als het overige protoplasma bestaande, en in reactiën daarmede dus overeenkomende, vindt men in microscopische doorsneden zijdelings of eindelings aan den zetmeelkorrel gehecht; het doet zich aan groote korrels als een klein aanhangsel voor. Doch in de jongere cellen is de verhouding omgekeerd, hier zijn de nog zeer kleine zetmeelkorrels slechts kleine aanhangselen van de nu betrekkelijk groote „zetmeelvormers". In de allerjongste toestanden gelukte het zelfs, deze organen terug te vinden, vóór dat zij met de afzetting van zetmeel begonnen waren, en zoo het bewijs te leveren, dat zij het primaire, en de zetmeelkorrels het secundaire zijn. Zij zijn het, die de druivensuiker, die aan de cellen uit andere deelen der plant wordt toegevoerd, in zetmeel omzetten en als zoodanig vastleggen; van daar hun naam van zetmeelvormers of amyloplasten.

Overeenkomstig deze ontdekking is een bladgroenkorrel een

orgaan met dubbele functie; het is een zetmeelvormer, die tevens het vermogen bezit de druivensuiker onder den invloed van het licht, uit koolzuur en water te maken. In de chlorophylbanden der *Spirogyra's* zijn deze beide vermogens plaatselijk gescheiden, bij de hoogere planten echter is zulk eene scheiding tot nu toe niet waargenomen.

Toen eenmaal de wijze van ontstaan der zetmeelkorrels bekend was, ontstond de overtuiging, dat ook de kristallen in de planten door eigen organen voortgebracht worden, als van zelve, en bleek het, dat de omhullende protoplasma-vliezen, die Hofmeister daaraan had waargenomen, als de zakvormig uitgerekte overblijfselen van deze moesten worden beschouwd.

In deze richting verder gaande, wordt de hyaliene buitenlaag van het protoplasma tot het orgaan voor den bouw van den celwand, en het stroomend protoplasma tot het orgaan van het vervoer der plastische stoffen door de verschillende deelen van den protoplast. Allengs wordt de ontleedkundige beteekenis dier verschillende deelen ons helderder, en meer en meer blijkt, dat er niet een algemeene, slijmerige en vormlooze grondmassa is, waarin eenige organen als het ware drijven, maar dat elk onderdeel een bepaald orgaan, met eigen functie voorstelt, en dat uit de samenvoeging dezer deelen het geheel is opgebouwd.

Passen wij deze denkbeelden op een bepaald geval toe.

Onder alle functiën der plantaardige protoplasten is er eene, die door Dutrochet omstreeks het midden dezer eeuw ontdekt, eerst in de beide laatste tientallen van jaren door de omvangrijke onderzoekingen van Sachs meer en meer op den voorgrond getreden is. De beroemde ontdekker der osmose leerde, dat in de levende cellen een osmotisch proces plaats heeft, tengevolge waarvan de inhoud aanzwelt, en de wand gespannen wordt, en hij wees op het verband tusschen dit proces en de bewegingen, die plantendeelen onder den invloed van uitwendige invloeden en prikkels kunnen uitvoeren. Sachs echter ontdekte, dat deze osmotische spanning, de turgor, een van de voornaamste factoren van den groei is; dat zonder turgor, in het algemeen gesproken, geen groei tot stand komt. Talrijke onderzoekingen hebben deze stelling bevestigd, en meer en meer het groote belang van den turgor voor de meest uiteenloopende levensverschijnselen der planten doen kennen, en men kan wel zeggen, dat op dit, door Sachs geopende gebied van onderzoek, thans, zoo niet de meeste, dan toch een overwegend deel der tegenwoordige plantenphysiologen werkzaam zijn. Nog onlangs

leerde von Höhnel, dat de moleculaire spanningen in de celwanden, die men vroeger als een uiting eener eigene organisatie, eener polaire structuur, beschouwde, geheel door de uitrekkende werking van den turgor tijdens de afzetting der opeenvolgende lagen van den celwand kunnen verklaard worden.

De osmotische spanning in de levende cellen levert de mechanische kracht voor den groei der planten. Deze kracht is een zeer aanzienlijke, gelijk men leert uit de groote weerstanden, die zelfs kleine en teere plantendeelen bij hunnen groei kunnen overwinnen. Metingen leerden, dat zij in talrijke gevallen tusschen 5 en 10 atmospheren wisselt, doch ook niet zelden een hoogere waarde bereikt. Deze osmotische kracht wordt in verreweg de meeste plantencellen geleverd door een zeer verdunde oplossing van druivensuiker en plantenzure zouten, meestal met geringe hoeveelheden anorganische zouten vermengd. In bijzondere gevallen nemen rietsuiker, inuline, asparagine, salpeter, chloornatrium en verschillende andere stoffen daaraan een werkzaam aandeel. In groeiende cellen is dit echter zelden het geval, hier hebben in den regel de plantenzure zouten, en wel voornamelijk de verbindingen van het appelzuur met anorganische en organische bases naast grootere of kleinere hoeveelheden druivensuiker de overhand. Al deze stoffen worden door het plotoplasma ten deele als zoodanig van buiten opgenomen, ten deele uit het opgenomen voedsel bereid, en in beide gevallen in zoo aanzienlijke hoeveelheden in het celvocht opgehoopt, dat het gehalte aan vaste stoffen daarin bijna altijd meer dan 1% bedraagt.

Deze ophooping van opgeloste stoffen tot een grootere concentratie, dan waarin zij in de omgeving voorkomen, en deze productie van nieuwe stoffen met aanzienlijke osmotische kracht moet dus als een bijzondere functie der levende, en met name der groeiende plantencellen beschouwd worden. Mogen wij ook deze functie aan een bijzonder orgaan toeschrijven? De hierboven ontwikkelde denkbeelden leiden als van zelve tot een bevestigend antwoord op deze vraag, doch in de voorhandene waarnemingen is niets, wat er voor, en veel, wat er tenminste schijnbaar tegen pleit.

Gaan wij na, wat hieromtrent bekend is.

Gedurende het grootste gedeelte van den tijd, waarin eene plantencel groeit, d. i. in omvang toeneemt, bestaat zij uit een dunnen celwand, een zeer dun laagje protoplasma, dat den wand aan de binnenzijde overal en zonder leemten bekleedt, en verder uit het celvocht. Dit laatste neemt dus nagenoeg alle ruimte in de cel in;

het is de bovenbedoelde oplossing van suiker, appelzure zouten enz., die door hare aantrekking tot het water der omgeving de osmotische kracht der cel levert. Het is door het protoplasma en door den celwand als door twee alzijdig volkomen gesloten blazen omgeven. In de allerjongste toestanden der cel is dit celvocht nog niet aanwezig, eerst in den tijd, waarop de snelheid van den groei merkbaar toeneemt, ziet men in het tot nu toe massieve protoplasma hier en daar kleine met vocht gevulde holten ontstaan, wier aantal en wier grootte allengs zoo sterk toenemen, dat Sachs niet geheel ten onrechte zegt, dat het protoplasma daardoor het uiterlijk van schuim verkrijgt. Later neemt de grootte dezer zoogenaamde vacuolen nog steeds toe, doch haar aantal af; of dit laatste daardoor geschiedt dat ééne de andere verdringt, of dat zij met elkander tot een enkele samensmelten, is moeilijk te beslissen; zeker is het, dat er in de meeste gevallen weldra nog slechts ééne enkele vacuole overblijft, waarin al het voorhanden celvocht vereenigd is.

Een belangrijke vraag is nu, of deze vacuolen door een eigen wand omgeven zijn, dan wel eenvoudig druppels in het protoplasma vormen. Vele onderzoekers meenden het laatste, en besluiten daartoe ten deele uit het feit, dat het hun onmogelijk was een wand waar te nemen, ten deele uit de omstandigheid dat de protoplasma-stroomen niet zelden lichaampjes met zich voeren, die te groot zijn om geheel in den stroom bevat te zijn, en die dan gedeeltelijk in de holte van het celvocht uitsteken, en desniettegenstaande door den stroom voortbewogen worden. Of zij echter toch niet door een fijn laagje protoplasma van dit vocht gescheiden bleven, is een vraag, waarop hunne onderzoekingen geen antwoord gaven.

Nägeli, en later Pfeffer meenden daarentegen, dat de osmotische verschijnselen zelve het bestaan van zulk een wand eischten. Zij knoopten daarbij vast aan de omstandigheid, dat eiwit, onder bepaalde omstandigheden met water in aanraking komende, aan zijne oppervlakte een fijn, en somwijlen bijna onzichtbaar vlies doet neerslaan, en stelden nu het vermoeden op, dat zulk een neerslagvlies ook op de grens van het protoplasma en de vacuolen zou moeten ontstaan. Traube's onderzoekingen over de uiterst geringe permeabiliteit van zulke neerslag-vliezen schenen aan deze bewering een krachtigen steun te verleenen, toch vond zij geen algemeenen bijval, daar zij niet in staat was, de waargenomen verschijnselen te verklaren. Ook gelukte het aan Strasburger niet, zelfs met de beste optische hulpmiddelen, zich van het bestaan van zulk een membraan te overtuigen.

De waarnemingen over het ontstaan der vacuolen zijn evenmin gunstig voor de meening, dat deze het product van eigen organen zouden zijn. Ware dit laatste het geval, dan zou men deze organen reeds vóór het ontstaan der vacuolen als dichtere korrels in het protoplasma moeten zien. Nu valt echter het ontstaan der vacuolen tijdelijk met het ontstaan der zetmeelkorrels te zamen, en het is uiterst moeilijk te beslissen of tusschen de talrijke protoplasma-korrels, die men voor zetmeelvormers moet houden, er wellicht ook andere aangetroffen worden, die geen amyloplasten zijn, maar wier functie het is, de bestanddeelen van het celvocht voort te brengen. Ook rondom de jongste vacuolen heeft men tot nu toe geen eigen wand gezien.

Er is echter eene andere reeks van waarnemingen bekend, die als steun voor de meening van het bestaan van eigen organen voor den turgor kan worden aangevoerd. Snijdt men groote cellen, b.v. van *Chara*, *Nitella*, *Vaucheria* of *Conferva* onder water door, zoo treedt een deel van het protoplasma door de opening naar buiten. In dit gedeelte nu ziet men tal van kleine blazen ontstaan, die van lieverlede in grootte toenemen, en weldra een aanzienlijken omvang bereiken. Haar wand bestaat uit protoplasma, haar inhoud klaarblijkelijk uit een oplossing, die, hoe verdund ook, toch osmotische kracht genoeg bezit, om betrekkelijk zeer groote hoeveelheden water door den wand heen op te nemen en dezen daarbij aanzienlijk uit te rekken. Tot nu toe meende men déze blaasvorming als een gevolg van de aanwezigheid van opgeloste stoffen in het imbibitie-water van het protoplasma te moeten opvatten; de meening is echter geenszins uitgesloten, dat elke zoodanige blaas reeds in het normale protoplasma aanwezig was, doch hier zich slechts als een der tallooze fijne korreltjes en blaasjes voordeed, omdat het aan haar inhoud in de besloten ruimte der cel, en onder den invloed van het eigenlijke celvocht, niet mocht gelukken, water uit de omgeving op te nemen, en zich zoodoende merkbaar te vergrooten. Deze blazen zouden dan als het ware werkelooze organen voor turgorvorming zijn, en het vermoeden rechtvaardigen, dat ook het celvocht zelf door zulk een blaas omgeven ware, zij het ook dat deze door haar eigen activiteit in uiterst hooge mate uitgerekt was.

Het medegedeelde moge voldoende zijn om aan te toonen, dat de rechtstreeksche waarneming niet tot de ontdekking van een eigen wand der vacuolen, en dus ook niet tot die van een orgaan

van den turgor geleid heeft en dat de kans, om langs dezen weg tot het doel te geraken, uiterst klein is.

Ik heb daarom een anderen weg ingeslagen. Deze bestaat in de behandeling der cellen met een oplossing van 10 pct. kalisalpeter. Ik koos deze oplossing daar zij zeer snel in de cellen doordringt, en aan deze met zoo groote kracht water onttrekt, dat dit in vele gevallen door het protoplasma niet zonder schade verdragen wordt. De wateronttrekking veroorzaakt een osmotisch proces, waarbij het celvocht veel kleiner wordt, doch door het protoplasma omgeven blijft; dit laatste verlaat dus den celwand, en weldra ziet men het protoplasma als een dunne, min of meer kogelvormige blaas, met het celvocht als inhoud, ergens in de celholte liggen. Dit verschijnsel, dat thans algemeen plasmolyse genoemd wordt, en dat door alle neutrale oplossingen, die sterker water aantrekken dan het celvocht na opheffing van den turgor, kan te voorschijn geroepen worden, diende als uitgangspunt voor mijne methode.

De waarneming van in 10 pCt. kalisalpeter geplasmolyseerde cellen leerde mij namelijk, dat deze, wanneer zij slechts lang genoeg in de oplossing bewaard worden, tot nu toe onbeschreven verschijnselen vertoonen. Het is bekend, en het spreekt trouwens van zelf, dat de cellen na korten of langen tijd onder deze omstandigheden sterven. Doch dit sterven heeft niet plotseling, maar allengs plaats, en het treft ook niet alle deelen der protoplasten gelijktijdig. En nu is het juist de wand der vacuole, die het langste weerstand biedt, en dien men dus nog levend kan zien, wanneer de buitenlaag van het protoplasma, de celkern en de chlorophylkorrels reeds zichtbaar gestorven zijn. Deze hangen dan als gestolde, troebele klompjes, hier en daar aan den helderen, gladden en gespannen wand der vacuole.

Het levend protoplasma laat geene kleurstoffen door, het doode absorbeert deze daarentegen gretig. Om deze ontdekking van Nägeli op het onderhavige geval toe te passen, kleurde ik mijne salpeteroplossing, hetzij terstond, hetzij later, met eosine. Zoolang de geheele protoplast nog leefde, bleef hij ongekleurd, zoodra echter zijne uitwendige deelen gestorven waren, kleurden zich deze donkerrood, terwijl noch de wand der vacuole, noch ook diens inhoud, eenig spoor van kleuring vertoonden. Uren lang konden de cellen in dezen toestand vertoeven; eindelijk stierf natuurlijk ook de wand der vacuole, en drong de kleurstof overal door (b.v. *Allium sativum*, bolschub).

Zoolang het geheele protoplasma in een sterk geplasmolyseerde

cel levend is, is het de buitenlaag, die het sterkste gespannen is, de buitenvlakte is glad, en, zoo de protoplast voldoende vrij ligt, kogelvormig. De celkern puilt dan aan de binnenzijde in het celvocht uit. Zoodra echter nog slechts de wand der vacuole leeft, is het deze, die osmotisch gespannen is, en dus den kogelvorm aanneemt; de celkernen, die tusschen hem en de buitenlaag in lag, puilt nu aan de buitenzijde uit, en stoort den kogelvorm evenmin, als hij dien van de buitenlaag in den beginne deed (b.v. *Allium sativum*).

Kiest men cellen met gekleurd celvocht, b.v. die der paarse opperhuid van de onderzijde der bladeren van *Tradescantia discolor*; zoo kan men waarnemen, dat in sterk geplasmolyseerde cellen, wier uitwendig protoplasma en wier kern reeds door eosine gekleurd zijn, de wand der vacuole noch deze, noch de eigen kleurstof van het celvocht doorlaat; dit laatste blijft langen tijd donker paars gekleurd, terwijl het uitwendig protoplasma dood en rood van kleur is.

In de beschreven voorbeelden werd de cel volkomen geplasmolyseerd en eerst korter of langer tijd daarna begon het sterven. In andere proeven stierf de buitenlaag terstond bij het inwerken der zoutoplossing, en deze gevallen zijn voor de waarneming van den wand der vacuolen nog leerrijker. De stervende buitenlaag toch bleef daarbij gewoonlijk haar wandstandige positie innemen, en ook de celkern en de chlorophyl-korrels bleven aan haar vastgehecht, en dus in de onmiddellijke nabijheid van den celwand. De wand der vacuole bleef echter in leven, isoleerde zich aan alle zijden van het stervende deel van den protoplast, en contraheerde zich onder den invloed van het wateronttrekkende middel tot een kogel, die nu vrij in de holte der cel lag. Liet ik thans eosine inwerken, zoo kleurden zich het wandstandig protoplasma en de kernen rood; de chlorophyl-korrels werden natuurlijk bruin, doch de vacuole bleef geheel kleurloos, zoowel wat den wand als wat den inhoud betrof. De wand der vacuole liet dus geen eosine door, en hoopte dit ook niet in zich op.

Dit merkwaardige verschijnsel heb ik o.a. in het parenchym der bladeren van *Vallisneria spiralis*, in de opperhuid der bladschubben van *Allium sativum*, in de cellen van het vruchtmoes van *Ilex Aquifolium* in het bladmoes van *Pachyphytum bracteatum*, en dus in zeer verschillende planten en organen waargenomen. Ik meen, dat men het in alle turgesceerende cellen, ofschoon niet op iederen leeftijd, met het genoemde reagens, of met andere soortgelijke oplossingen zal kunnen terug vinden.

Er is echter geen fraaier en gemakkelijker voorbeeld voor de studie van deze verschijnselen dan het geslacht *Spirogyra*. Ik onderzocht daarvan voornamelijk eene bij ons zeer algemeene soort, die ik sints jaren in mijne aquariën kweek: *S. nitida*. Deze soort vertoont in de salpeteroplossing en onder den invloed der eosine, al naar gelang van de snelheid van de inwerking en van den ouderdom en de grootte der cellen, al de boven beschreven verschijnselen. Daarenboven is het echter bij haar mogelijk, wat mij bij hoogere planten nog niet gelukte, om den wand der vacuole geheel uit het protoplasma te bevrijden. Somwijlen geschiedt dit reeds van zelf, andere malen kan men het door een langzame zachte drukking bewerken, b.v. door het vocht onder het dekglas weg te zuigen of te laten verdampen, waarbij het dekglas op de cellen drukt, of ook door de draden te buigen en te knakken. Ik zag meermalen onder mijne oogen, terwijl ik bezig was eene cel te teekenen, langzaam de vacuole naar buiten schuiven, terwijl het stervende protoplasma zich contraheerde; eindelijk lag de eerste, met haar wand, als een kogelvormige sterk gespannen en helder lichtbrekende blaas in de celholte, naast het doode protoplasma. Eosine kleurde dit laatste, doch niet de vacuole. Soms traden uit denzelfden protoplast twee of meer vacuolen naar buiten; in één geval zelfs vijf, zonder dat daarmede het protoplasma uitgeput was.

Brengt men cellen van *Spirogyra*, waarin de vacuolen het protoplasma verlaten hebben, uit de salpeteroplossing in water, zoo kan men de vacuolen sterk zien opzwellen, weldra barsten zij, en de wand schrompelt nu tot een klein sterk geplooid onoogelijk lichaampje inéén. Laat men de cellen echter in de salpeteroplossing uren of dagen lang liggen, zoo sterft eindelijk de wand der vacuole, doch langzaam; daarbij blijft hij glad en doorschijnend en verandert niet van vorm of omvang. De doode wand laat echter eosine uiterst gemakkelijk door. Daarenboven is hij nu stijf en bros en barst, wanneer men op de cel drukt. Aan de randen van den barst kan men nu de dubbele contour van den wand duidelijk zien, iets, wat vóór den dood niet mogelijk was. Dat de langzaam gestorven wand niet meer schrompelt, behoeft verder wel ter nauwernood opgemerkt te worden.

Al deze waarnemingen leeren, dat in het levende protoplasma van turgesceerende cellen, dus wel van alle cellen in minstens ééne periode van haar leven, een orgaan voorkomt, dat men tot nu toe daarin nooit had waargenomen, en dat dan ook slechts door sterke en snelwerkende plasmolytische reagentien (b.v. 10% kalisalpe-

ter), kan worden aangetoond. Het is de wand der vacuole, het orgaan van den turgor. Het is een levend deel van den protoplast, even als deze uit protoplasma opgebouwd, en geenszins een levenloos vlies, een neerslag-membraan, in den zin van Nägeli en Pfeffer. Of zulk een membraan bestaat heb ik niet onderzocht; het komt mij echter voor, dat de medegedeelde feiten deze hypothese overbodig maken. Naar analogie der amyloplasten moet men aannemen, dat ook deze organen in vrij groot aantal in de jongste toestanden der cellen voorhanden zijn, en dat door hen, en in hun binnenste de stoffen worden afgescheiden en opgehoopt, die door wateronttrekking aan de omgeving, allengs in celvocht veranderen.

Arthur Meijer heeft voor de organen der plantaardige protoplasten een nieuwe nomenclatuur voorgesteld; volgens deze zou het hier beschreven orgaan den naam van *tonoplast* (turgormaker) moeten voeren.

Uitvoerige en door teekeningen opgeluisterde mededeelingen over de tonoplasten hoop ik weldra elders te kunnen geven.

Amsterdam, Juni 1884.

(Maandblad voor Natuurwetenschappen 11e Jrg. 1884, blz. 56.)

OVER LOOISTOF-REACTIËN VAN SPIROGYRA NITIDA.

De physiologische beteekenis der looistoffen in het plantenrijk ligt nog nagenoeg geheel in het duister en onze kennis van de anatomische verspreiding dezer stoffen over de verschillende weefsels en organen is nog op verre na niet volledig genoeg, om als een vaste grondslag voor physiologische beschouwingen te kunnen dienen. Het optreden van looistoffen in bepaalde perioden van het leven der cellen, haar verdwijnen in andere, staat bij onze tegenwoordige kennis nog evenmin in verband met andere physiologische processen, als de aanzienlijke ophooping dezer stoffen in enkele, in dit opzicht meer bevoorrechte organen. Toch doet zich overal de behoefte gevoelen aan eene beantwoording van de vele vragen, die zich hier aan den onderzoeker opdringen, — getuige de vele verhandelingen, die juist in de laatste jaren over dit onderwerp verschenen zijn.

Een van de belangrijkste, doch tevens van de moeilijkste vragen, die door anatomisch onderzoek behooren beantwoord te zijn, voordat men een oordeel over de physiologische zijde van het vraagstuk kan vellen, is m. i. deze: In welke deelen der cel zijn de looistoffen neergelegd? Hieromtrent vindt men in de voorhandene literatuur, zelfs in die van de laatste jaren, bij verschillende schrijvers, geenszins de gewenschte overeenstemming. Voor de groote meerderheid der onderzochte gevallen is men het wel is waar eens, dat de looistoffen in opgelosten toestand in het celvocht voorkomen, voor andere gevallen vindt men echter opgegeven, dat deze verbindingen in celwanden, in chlorophylkorrels en zelfs in celkernen zijn aangetroffen. Eene uitvoerige studie der tamelijk uitgebreide literatuur over dit onderwerp leidde mij tot de overtuiging, dat in deze laatste voorbeelden de mogelijkheid geenszins buitengesloten is, dat de looistoffen ook hier oorspronkelijk slechts in het celvocht aanwezig waren. Haar voorkomen in andere deelen der cel zou dan daarop moeten berusten, dat de gebruikte reagentiën de protoplasten gedood hebben, voordat zij in voldoende hoeveelheid waren ingedrongen om al het looizuur neer te slaan. Het overschot bevindt zich voor eenigen tijd in een bijzonderen toestand, het kan vrijelijk

door protoplasma en celwanden diffundeeren, en dan door die deelen geabsorbeerd worden, die daartoe het vermogen bezitten. Dringt dan langzamerhand het reagens in grootere hoeveelheid in, zoo wordt dit gedeelte der looistof natuurlijk dáár neergeslagen, waar het geabsorbeerd werd, en niet dáár, waar het in de levende cel zich bevond. In het eerste gedeelte van dit opstel zal ik trachten de gronden uiteen te zetten, die mij toeschijnen voor deze meening te pleiten.

Om volkomene zekerheid te erlangen, is het natuurlijk noodig de door andere schrijvers beschreven voorbeelden zelf te onderzoeken, en daarbij gebruik te maken van zoodanige methoden, als omtrent het punt in quaestie eene zoo scherp mogelijke beslissing geven. Het is nu geenszins mijn doel, dit onderzoek in zijn geheelen omgang ten uitvoer te brengen. Ik wensch slechts het beginsel aan te geven, waarop m. i. zulk eene methode kan worden opgebouwd, en tevens de bruikbaarheid van dit beginsel te toetsen aan een voorbeeld, waaraan door een ieder zoowel de absorptie van looistoffen door verschillende deelen der cellen, als ook de bewijzen voor de stelling, dat, in de levende cel, deze verbindingen alleen in het celvocht liggen, gemakkelijk kunnen worden gecontrôleerd. Ik kies daartoe *Spirogyra nitida*, een draadwier, dat bij ons algemeen in slooten voorkomt, en zonder moeite, jaren lang, in schotels met water en klei in groote hoeveelheid gekweekt kan worden.

Het beginsel mijner methode is de isoleering van bepaalde deelen der cel van de overige, vóór de inwerking van het looistof-reagens. Komt het er alleen op aan, aan te toonen, dat de looistof zich in het celvocht bevindt, zoo kan men de vacuolen, die dit vocht bevatten, van alle deelen der cel isoleeren. Wil men zich daarentegen overtuigen, dat de looistof in geen ander deel der cel is opgehoopt, zoo behoort men den geheelen protoplast, door water-onttrekkende middelen, van den celwand te isoleeren en hem te dwingen zich zoover te contraheeren, dat ook tusschen de vacuolen en de overige organen eene, zij het ook slechts gedeeltelijke, scheiding tot stand komt. Eerst nadat, in beide gevallen, deze isoleering bereikt is, voegt men het te gebruiken looistof-reagens toe.

Op welke wijze men dit bewerken kan, zal in de beide laatste afdeelingen van dit opstel, voor *Spirogyra nitida*, nauwkeurig beschreven worden. De ervaring heeft mij echter geleerd, dat ook bij andere en met name hoogere planten, dezelfde bewerkingen tot hetzelfde doel leiden.

I. Over de absorptie van looistoffen door celwanden en protoplasten.

a. Absorptie in celwanden. Bij het microchemisch onderzoek van doorsneden uit de meest verschillende looistof-houdende plantensoorten is het een zeer gewoon geval, dat, tegelijk met den celinhoud, ook de celwanden zich met ijzerzouten blauw of groen kleuren. Met name komt dit bij het gebruik van de oudere methoden van onderzoek, en bij het behandelen van versche microscopische praeparaten met ijzerzouten voor; in mindere mate, doch niet geheel buitengesloten is het, zoo men volgens het voorschrift van Sanio en Franchimont, geheele takjes gedurende eenigen tijd met het reagens drenkt, voor men er doorsneden van maakt. Behandelt men de levende draden van *Spirogyra* op de gewone wijze met verdunde oplossingen van ijzerchloride of azijnzuur ijzer, zoo zijn het voornamelijk de dwarse wanden, die eene blauwe kleur aannemen; in mindere mate is dit met de overlangsche wanden en met den inhoud der cellen het geval. Nägeli en Schwendener, die dit geval aan afstervende of reeds afgestorven draden van *Spirogyra* waarnamen, opperden reeds het denkbeeld, dat de wanden de opgeloste looistof in zich zouden hebben opgehoopt .Zij staafden dit vermoeden wel niet door het bewijs, dat in de levende draden de celwanden geen looistof bevatten, maar daarentegen door de waarneming, dat de celwanden van *Spirogyra* en van andere planten uit verdunde kunstmatige oplossingen van looistoffen deze verbinding in hooge mate opslorpen. Brengt men ze uit deze oplossing in ijzerchloride, zoo nemen de wanden een donkerblauwe kleur aan [1]).

Dezelfde schrijvers deelen mede, dat in knoppen, in vele bladeren, in sommige vaatbundels en in onrijpe vruchten, de looistoffen voornamelijk in het celvocht opgelost zijn, en voegen er dan bij „Der Gerbstoff durchdringt hier in manchen Fällen auch die Membran, und scheint demnach von Zelle zu Zelle zu diffundiren'' [2]). Deze meening is, voor zeer jeugdige organen, ook Kutscher toegedaan [3]), die in den meristematischen toestand der organen bij de door hem onderzochte planten de looistof in alle cellen en in alle weefsels, zoowel in den inhoud als ook in de celwanden en zelfs in de celkernen vond. Uit dit voorkomen in de

1) Nägeli und Schwendener. Das Mikroskop. 2e Aufl. p. 494.

2) l.c. p. 492.

3) E. Kutscher. Ueber die Verwendung der Gerbsäure im Stoffwechsel der Pflanze. Flora 1883. Overdruk blz. 35.

celwanden besluit ook K. tot een transport van de looistof van het eene weefsel naar het andere. Ook Schell 1) vond in jonge weefsels de looistof veelvuldig in celwanden en celkernen, komt echter, na een uitvoerige discussie, tot de conclusie, dat in de levende cellen de looistof slechts in opgelosten toestand voorkomt. Doch ook hij meent nog het voorkomen van looistof in de celwanden in den levenden toestand der jeugdige weefsels te moeten aannemen, als hij zegt: „Man muss annehmen, dass die Gerbsäure nicht nur in dem Zellinhalt vorkommt, sondern auch in den Zellhäuten, weil sie von den einen Zellen in die anderen diffundirt und also durch die Häute gehen muss; das beweisen auch directe Beobachtungen an den jungen sich entwickelnden Organen von *Syringa vulgaris* und *Vaccinium Vitis Idaea* (besonders aus dem Stengelgipfel) — mit weiterer Entwickelung dieser Organe verschwindet sie aus den Zellhäuten."

De aangehaalde voorbeelden mogen voldoende zijn, om de heerschende meening ten opzichte van het voorkomen van looistoffen in jonge celwanden te doen kennen. Het komt mij echter voor, dat er geen gegronde redenen bestaan om a priori aan te nemen, dat looistoffen uit de eene cel aan de andere zouden kunnen worden medegedeeld, de voorhandene waarnemingen zijn even goed te verklaren, wanneer men zulk een transport van looizuur, dat nergens bewezen is, niet aanneemt. Het optreden der ijzerreactie in de celwanden kan zeer goed bij hoogere planten, juist even als bij *Spirogyra*, een gevolg van de doodende werking van het reagens en van de absorptie der in het celvocht opgeloste looistof in deze wanden zijn.

b. Absorptie in celkernen en chlorophylkorrels. In meristematische weefsels nemen niet zelden, bij looistof-reactiën, de protoplasten met al hunne onderdeelen een meer of minder donkere tint aan. Veelal wordt het protoplasma grijs, de kernen donkerder of zelfs zwart. In bladgroenhoudende cellen, die tevens looistof bevatten, kleuren zich vaak ook de chlorophylkorrels zwart. Talrijke voorbeelden daarvan vindt men in de literatuur, ook bij de aangehaalde schrijvers, vermeld.

In de cellen van *Spirogyra nitida* kan men dit verschijnsel op geheel gelijke wijze waarnemen. Brengt men de draden in een sterke oplossing van azijnzuur ijzer, zoo worden de inhouden der cellen geheel zwart, terwijl de celkernen iets donkerder gekleurd

1) J. Schell. Die physiologische Rolle der Gerbsäure, Kazan 4°. (Russisch) gerefereerd in het Botan. Jahresbericht 1875, blz. 874.

zijn dan de overige deelen. In een slappere oplossing kleuren zich de protoplasten slechts weinig, de kernen en chlorophylbanden werden echter grijs. Ook als ik van de reactie van Moll gebruik maakte, door de looistof eerst met azijnzuur koper neer te slaan en dan den neerslag met azijnzuur ijzer zwart te kleuren [1]), verkreeg ik hetzelfde resultaat, daar zich voornamelijk de celkernen en chlorophyl-banden zwart kleurden. Ik zag dit zoowel als ik het azijnzuur koper in de door Moll voorgeschreven concentratie (7%) gebruikte, als wanneer ik van dit zout een meer verdunde oplossing (3%) koos [2]).

In de beide volgende afdeelingen zullen wij zien, dat in de levende cellen van *Spirogyra* het looizuur alleen in het celvocht voorkomt. De kleuring van den protoplast en zijne organen met looistof-reagentiën moet dus in dit geval aan absorptie tijdens de inwerking dezer middelen worden toegeschreven.

Uiterst fraai kan men de zwartkleuring der protoplasten ook waarnemen in de cellen van de stelen der klieren, die men op de bladeren van *Drosera rotundifolia* aantreft. Bij behandeling met ijzerzouten worden hier de protoplasten donkergrijs of zwart, terwijl de vacuolen geheel kleurloos blijven.

c. Absorptie in zetmeel. Dit geval heb ik in de cellen van *Spirogyra* tot nog toe niet waargenomen. Een zeer fraai voorbeeld leveren echter de vruchten der aardappelplant. In deze bessen vindt men, ten minste bij bepaalde variëteiten, groote, ovale, kleurlooze korrels, die een duidelijken laagsgewijzen bouw vertoonen, en in uiterlijk geheel met de zetmeelkorrels der aardappels overeenkomen. Van deze wijken zij echter ten eenenmale door hunne reactiën af. Jodium kleurt ze bruin. Dubbelchroomzure kali kleurt ze eveneens bruin. IJzerchloride kleurt ze grijs [3]). Uit deze beide laatste reactiën mag men afleiden, dat de korrels looistof bevatten, en wegens het gemis van blauwkleuring met jodium meende ik aanvankelijk, dat zij geen amylum konden zijn. Nadat ik echter de

---

1) J. W. Moll. Een nieuwe microchemische looizuur-reactie. Maandblad voor Natuurwetenschappen, 11e Jaarg. blz. 97.

2) Dr. Moll deelde mij mede, dat hij bij de toepassing zijner reactie op *Spirogyra* een gunstiger resultaat verkregen heeft. Bracht hij namelijk de draden van dit wier niet op het voorwerpglas met azijnzuur koper in aanraking, maar wierp hij ze in een groote hoeveelheid der verzadigde oplossing, b.v. in een flesch, zoo werd het looizuur uitsluitend in de vacuolen neergeslagen, en drong het niet in celkernen of chlorophylbanden in.

3) Wachsthumsgeschichte der Kartoffelpflanze, in Landw. Jahrbücher. Bd. VII, 1878 blz. 637.

bessen gedurende eenigen tijd in alcohol bewaard, en dezen van tijd tot tijd ververscht had, zoodat alle looistof uitgetrokken werd, bleek het, dat de korrels in uiterlijk geheel onveranderd, doch in hunne reactiën volkomen veranderd waren. Dubbelchroomzure kali en ijzerzouten waren thans onwerkzaam; jodium kleurde ze blauw. Het waren dus zetmeelkorrels, die met looistof doortrokken geweest waren [1]).

Zulke, met looistof doortrokken zetmeelkorrels beschrijft Schell in de mergstralen en het merg van *Koelreuteria paniculata*, in de cellen van *Platanus orientalis*, *Rhus Toxicodendron* e. a.; hij verklaart dit verschijnsel door aan te nemen dat de zetmeelkorrels, bij den dood der cellen, de looistof uit het celvocht geabsorbeerd hebben [2]).

Ook elders werd met looistof doortrokken zetmeel niet zelden gezien. Nägeli en Schwendener toonden aan, dat Hartig's looistofmeel niets anders is dan fijnkorrelig zetmeel, met deze stof gedrenkt, en leerden tevens dat zetmeelkorrels uit kunstmatige oplossingen van looistof zooveel kunnen opnemen, dat zij daarna door ijzerzouten blauw gekleurd kunnen worden.

Waar dus zetmeelkorrels looistof-reactiën vertoonen, mogen wij veilig aannemen, dat zij het looizuur eerst tijdens of na den dood der cel uit het celvocht hebben opgenomen.

II. Looistof-reactiën van Spirogyra nitida, na de isoleering der vacuolen.

De in deze afdeeling te beschrijven methode heeft ten doel, het looizuur rechtstreeks in het celvocht zichtbaar te maken. Zij laat de aanwending van alle gebruikelijke reagentiën op looistof evenzeer toe. Zij bestaat in een verbinding van de reactie, die ik reeds vroeger gebruikt heb om vacuolen te isoleeren, met het gewone microchemische onderzoek op looistoffen [3]).

Brengt men draden van *Spirogyra nitida* in eene oplossing van 10% kalisalpeter, zoo neemt men, al naar gelang van de snelheid der inwerking, en van de individueele eigenschappen der cellen, de volgende verschijnselen waar. Nu eens wordt de geheele protoplast van den celwand geïsoleerd; hij trekt zich daarbij min of

---

1) Vergelijk over deze korrels ook von Mohl, in Bot. Zeitung, 1858, blz. 374.

2) l. c. p. 875.

3) Vergelijk *Opera II*, blz. 305.

meer samen, doch blijft, ten minste aanvankelijk levend. Dan weer wordt het protoplasma, tengevolge van de plotselinge inwerking van het zout, in zijne buitenste lagen zonder contractie gedood; deze behouden dan, met de chlorophyl-banden, haar oorspronkelijken stand in de cel volkomen onveranderd. Slechts de wanden der vacuolen bieden dan aan de doodelijke werking der salpeteroplossing weerstand, en deze vertoonen nu, binnen de doode lagen van het protoplasma, hetzelfde, wat de geheele protoplast in het eerstbeschreven geval vertoonde: zij worden tengevolge der onttrekking van water aan hun inhoud langzamerhand kleiner, en krimpen tot blazen in, die zich meer en meer van het doode protoplasma verwijderen, en eindelijk als kogels vrij in de celholte liggen. Niet zelden ziet men daarbij de oorspronkelijke blazen zich door insnoering tot twee of meer, geheel afgeronde blazen deelen. Zulke blazen kunnen, in de overigens doode cellen, eenige uren lang in leven blijven, doch op den duur sterven zij natuurlijk altijd. Een derde geval, dat ons de inwerking der salpeteroplossing in de cellen van *Spirogyra* zeer dikwijls te zien geeft, bestaat in eene vereeniging der beide beschrevene. De protoplast trekt zich dan een weinig van den celwand terug, maar sterft daarna, terwijl de wanden der vacuolen levend blijven en zich òf wel in den half gecontraheerden protoplast nog verder verkleinen en afzonderen, òf wel door de contractie van den protoplast naar buiten gedrongen, en zoodoende nog volkomener dan elders geïsoleerd worden 1).

Hetzij nu de vacuolen zich binnen den gestorven protoplast geïsoleerd hebben, hetzij zij eng door de doode deelen omgeven blijven, hetzij zij eindelijk geheel door deze naar buiten gedrongen zijn, steeds vormen zij blazen met een dunnen, sterk gespannen wand, die volkomen kleurloos en helder en glinsterend van oppervlakte zijn. Zoo lang zij deze eigenschappen vertoonen, is haar wand nog levend, en deze toestand kan uren lang duren. Dan sterven zij, en wel nu eens zoo, dat de wand eenvoudig verstijft en zijn glans verliest, dan weer zoodat de wand barst, en onder uitstooting van den inhoud samenkrimpt. Door vergiften, of door verwarming tot boven de temperatuurgrens kan men dit sterven der blazen doen plaats vinden, terwijl men ze onder den microscoop waarneemt.

Zoolang zij levend zijn, bezitten de wanden der vacuolen, in meer of minder volkomene mate de voor het levende protoplasma zoo

1) Vergelijk Fig. 1 en 2 op blz. 317.

kenmerkende eigenschap van opgeloste stoffen niet of slechts uiterst traag te laten diffundeeren. Zeer fraai ziet men dit b. v., zoo men de salpeteroplossing met eosine kleurt; de geïsoleerde vacuolen blijven dan, zoolang zij leven, kleurloos. In cellen uit weefsels met een gekleurd celvocht blijft de opgeloste kleurstof in die periode in de geïsoleerde vacuolen, zij verlaat deze eerst als haar wand begint te sterven.

Hetzelfde geldt nu in de cellen van *Spirogyra* voor de looistof. Deze blijft binnen de geïsoleerde blazen, ook na den dood van het overige protoplasma, besloten, en verlaat de vacuolen eerst, als ook haar wand sterft. En daar nu de vacuolen tot bollen gecontraheerd zijn, wier volumen vele malen kleiner is dan dat der cel, waarin zij liggen, is het natuurlijk gemakkelijk zich bij looistof-reactiën van de juistheid hiervan te overtuigen, gelijk trouwens uit de beschrijving der waarnemingen nog nader blijken zal.

Zooeven heb ik reeds gezegd, dat door de inwerking van vergiften de geïsoleerde vacuolen onder het oog van den waarnemer op tweeërlei wijzen kunnen sterven. Ten eerste zóó, dat haar wand eenvoudig verstijft, waarbij deze dan tevens voor alle in water opgeloste stoffen permeabel wordt en dus ook de looistof en de looistof-reagentiën doorlaat. Ten tweede zóó, dat de wand barst en inkrimpt; zij stort dan haar inhoud uit, die zich nu met de omgevende zoutoplossing vermengt. Vandaar, dat ook de looistofneerslag op tweeërlei wijzen in deze cellen kan ontstaan.

a. Looistofneerslag binnen de verstijfde vacuolen.

1. Op cellen van *Spirogyra nitida*, wier vacuolen door 10% KNO_3 tot vrij groote kogelronde blazen geïsoleerd waren, liet ik, volgens Moll's methode, azijnzuur koper inwerken. De inhoud der vacuolen werd daardoor neergeslagen; in azijnzuur ijzer gebracht werd de neerslag grijs, en bleek als korrels tegen de binnenzijde van den vacuolenwand aan te liggen. Elders in de cellen trad geen looistof-reactie op.

2. In een ander praeparaat hadden de protoplasten zich in 10% KNO_3 zóó gecontraheerd, dat zij de vacuolen hadden uitgestooten; deze lagen in elke cel als twee kogelronde blazen naast het doode protoplasma. Toen ik aan de zoutoplossing ijzerchloride toevoegde, kleurde zich de inhoud dezer blazen, na eenigen tijd, donkerblauw; de protoplast vertoonde geen looistof-reactie (zie Fig. 2).

3. Cellen wier protoplast onder geringe contractie gestorven was, en waarin zich de vacuolen tot twee of meer blazen afgerond hadden, werden in een verzadigde oplossing van dubbelchroomzure

kali gebracht. Nadat dit eenigen tijd ingewerkt had, en daarna met 10% KNO^3 uitgewasschen was, waren de wanden der vacuolen gelijkmatig bruin gekleurd en verstijfd; hun inhoud was kleurloos, doch de looistofneerslag lag in den vorm van de bekende groote doorschijnende bruine korrels aan de binnenzijde tegen den vacuolenwand aan. De overige deelen van den celinhoud waren door het chroomzure zout niet gekleurd geworden. In dit praeparaat zag ik cellen, wier protoplast tot een zeer onaanzienlijke massa samengeschrompeld was en aan het eene einde der cel lag, terwijl de vacuole, als een kogelronde blaas, ver daar van daan in het andere einde der cel lag.

4. Uiterst fraaie resultaten verkrijgt men met osmiumzuur, dat, gelijk bekend is, met looistof een zwarten korreligen neerslag geeft. In een praeparaat waren door de inwerking van 10% KNO^3 de vacuolen op allerlei wijzen gecontraheerd en geïsoleerd. Toen werd de vloeistof vervangen door eene, die evenveel salpeter, en iets minder dan 1% osmiumzuur bevatte. Oogenblikkelijk verstijfden de wanden van alle vacuolen, haar inhoud werd zwartkorrelig. Bij zwakke vergrooting deden zij zich als donkere, zwarte bollen in de overigens door het reagens nietgekleurde cellen voor (zie Fig. 1).

5. Hetzelfde resultaat geeft, onder dezelfde omstandigheden, salpeterzuur zilver 1), wanneer dit in het donker inwerkt, en men de draden daarna, liefst na verwijderen van het overtollige zilverzout, aan het licht blootstelt. De vacuolen doen zich als zwarte bollen voor 2).

6. Ook door lakmoes en evenzoo door jodium wordt de inhoud der geisoleerde vacoulen neergeslagen, onder verschijnselen die geheel met de boven beschrevene overeenkomen.

b. Looistofneerslag, bewerkt door het barsten der geïsoleerde vacuolen.

Gelijk ik reeds gezegd heb, kan men de geïsoleerde doch nog levende wanden der vacuolen door verwarming onder den microscoop doen barsten. Dit geschiedt, zoodra de temperatuurgrens van het leven van deze wanden bereikt wordt. Deze grens ligt om-

1) Over de reductie van zilverzouten door digalluszuur tot metallisch zilver zie Beilstein, Handb. d. org. Chemie. 10 Lief. p. 1570.

2) De zilverreactie van *Spirogyra* zonder behulp van eene sterke zoutoplossing laat in het onzekere omtrent de plaats waar de neergeslagen stof in de levende cel lag; zij vertoont den neerslag somwijlen in de chlorophylbanden. Zie Löw und Bokorny, Die chemische Ursache des Lebens. 1881, fig. 1—8.

streeks 45° C. Heeft men nu vooraf aan de salpeteroplossing een ijzerzout toegevoegd, dat op zich zelf niet of ten minste niet terstond doodelijk werkt, dan komt natuurlijk de inhoud der vacuole bij het barsten plotseling met dit reagens in aanraking, en vóór of in de barst ziet men den blauwen neerslag van het looizuur ijzer ontstaan. Ontstaat de neerslag vóór de barst, zoo ziet men hem als een wolkje van donkerblauwe korrels, die in het midden dicht opeengehoopt, doch aan den omtrek meer verspreid zijn. Ontstaat de neerslag in de barst zoo schijnt hij de eigenschappen van een colloidaal vlies, een Traube'sche neerslag-membraan te kunnen aannemen, en daardoor de barst te verstoppen. Ten minste ik zag herhaaldelijk, dat eene vacuole, na eenmaal gebarsten te zijn, en in de barst een dikke massa van looizuur ijzer gevormd te hebben, bij verdere verwarming nog eens barstte en nog eens zulk een neerslag gaf (zie Fig. 3). Daarna was zij echter uitgeput. Voor deze proeven gebruikte ik hoofdzakelijk azijnzuur ijzer.

Door deze waarnemingen acht ik het boven allen twijfel verheven, dat in het celvocht van *Spirogyra nitida* een looistof in opgelosten toestand aanwezig is.

Ter verduidelijking van het boven medegedeelde mogen de bijgevoegde figuren dienen (Fig. 1—3). Deze stellen allen cellen van *Spirogyra nitida* voor, die op verschillende wijzen eerst met een oplossing van 10 pCt. salpeter en daarna met een looistof-reagens behandeld zijn. In Fig. 1 is de bouw der cel nog het minst veranderd, en daarom het beste te herkennen. Door de sterke salpeter-oplossing is het protoplasma gedwongen geworden zich overal van den celwand los te maken en in te krimpen, men ziet het als een kleineren cilinder met gebogen en gerimpelde oppervlakte in de celholte liggen. De chlorophylbanden zijn in deze soort steil, en waren in de afgebeelde cel sterk ontwikkeld; zij liggen nog in de buitenste laag van het gecontraheerde lichaam, en zijn daarin door een donkerder tint aangegeven, terwijl de zetmeelkorrels, die in kleine groepen hier en daar in deze banden liggen, wit gelaten zijn. Binnen in den gecontraheerden protoplast ziet men twee groote en een aantal kleine bollen. Dit zijn de vacuolen, ontstaan uit de groote vacuole, die oorspronkelijk alle ruimte binnen het wandstandig protoplasma innam, en die nu, door de water-onttrekkende werking van den salpeter, zeer sterk aan volumen verloren en zich daarbij in een aantal blazen gedeeld heeft. Elke blaas vertoont een eigen wand, die een gedeelte is van den oorspronkelijken wand der va-

Fig. 1.
Cel van *Spirogyra nitida* na opvolgende behandeling met 10 pCt. KNO_3 en met osmium-zuur.

Fig. 2.
Cel van *Spirogyra nitida* na opvolgende behandeling met 10 pCt. KNO_3 en ijzerchloride.
a en *b* de vacuolen, door den wand omgeven, en waarin de neerslag van het looizuur-ijzer ligt; *p* protoplast.

Fig. 3.
Halve cel van *Spirogyra nitida*, behandeling met 10 pCt. KNO_3 en verwarming in azijnzuur-ijzer. De vacuole *a* maakt eerst de barst 1, daarna de barst 2; vóór beiden onstond de neerslag.

cuole. Kort na de behandeling met de salpeteroplossing waren deze blazen glad gespannen, en zooveel de ruimte en de aanraking met de doode deelen van den protoplast toelieten, kogelvormig. Eosine, dat deze laatste kleurde, drong in de blazen niet in. Onze figuur stelt nu de reactie van osmium-zuur voor; vandaar dat de blazen geheel zwart geteekend zijn, daar het osmium-zuur de looistof als een zwarte massa neerslaat. Deze neerslag ontstaat, zooals de figuur laat zien en op blz. 315 sub. 4 besproken is, uitsluitend in de vacuolen.

In Fig. 2 heeft de inwerking van het salpeter andere gevolgen gehad. Wel is waar is ook hier de protoplast gecontraheerd vóór hij stierf, doch bij die contractie heeft hij de vacuolen naar buiten gestooten. De wand der oorspronkelijke vacuole heeft zich in het midden ingesnoerd en doorgesnoerd, en zoo zijn inhoud in twee deelen gedeeld, die verder door het stervende protoplasma ge-

scheiden werden. Elk deel der vacuole, door de helft van den wand als door een levend, gespannen vlies omgeven, is nu als een kogelvormig lichaam tusschen den gedesorganiseerden protoplast en een der dwarsche celwanden zichtbaar. Toen deze toestand bereikt was, liet ik op de cel ijzerchloride inwerken, de inhoud der blazen kleurde zich weldra donkerblauw, en de neerslag van het blauwe looizuur ijzer bleef tot de vacuolen beperkt (Zie blz. 314 sub. 2).

Hoe zich de neerslag van het looizuur ijzer voordoet, zoo men dezen op de op blz. 315 sub *b* beschreven wijze doet ontstaan, door n.l. de vacuoleblazen te laten barsten, vertoont ons Fig. 3. De behandeling met de salpeter-oplossing heeft hier dezelfde uitwerking gehad als in het in Fig. 1 afgebeelde geval. Men ziet den gecontraheerden protoplast met zijne chlorophylbanden en de zetmeelkorrels. De oorspronkelijke vacuole had zich bij hare contractie in twee blazen gedeeld; daar slechts de helft der cel afgebeeld is, ziet men van deze er slechts één. Toen later aan de salpeter-oplossing azijnzuur ijzer werd toegevoegd, en het praeparaat onder het microscoop werd verwarmd, zag ik eerst plotseling de barst 1 ontstaan, en weer door een prop geleiachtig looizuur ijzer gesloten worden. Kort daarop ontstond op dezelfde wijze de barst 2. (Zie overigens blz. 315).

III. Looistof-reactiën van Spirogyra nitida in normaal geplasmolyseerde cellen.

Wil men zich overtuigen, dat in de cellen van *Spirogyra nitida* de looistof uitsluitend in het celvocht ligt, en dat noch de celwand noch ook de protoplast, de kernen en de chlorophylbanden daarmede gedurende het leven gedrenkt zijn, zoo kan men daartoe van de normale plasmolyse, in verbinding met eene looistofreactie gebruik maken. Ook volgens dit beginsel kan de reactie zich op zeer verschillende wijzen voordoen. Het moge voldoende zijn, een paar daarvan te beschrijven.

1. In 10 pCt. salpeter ziet men niet zelden de cellen tot den zoogenaamden haltervorm geplasmolyseerd. De protoplast heeft zich dan zeer sterk gecontraheerd; de vacuole heeft zich door insnoering in twee helften verdeeld, die kogelvormig geworden zijn, doch nog volkomen omgeven worden door het levende protoplasma. Tusschen de beide vacuolen vormt de protoplast een korteren of langeren dunnen cilinder, die somwijlen nog enkele kleine vacuolen bevat. Is nu de protoplast daarbij geheel levend gebleven,

zoo kan hij natuurlijk nog geen looistof verloren hebben. Laat men nu osmium-zuur inwerken, zoo wordt alles oogenblikkelijk gefixeerd, en waar looistof voorhanden was, ontstaat een zwarte neerslag. Dezen ziet men nu alleen in de vacuolen; de chlorophylbanden blijven groen, de celkernen en de protoplast kleurloos. Ook in de celwanden ontstaat geen neerslag.

2. Wenscht men eene zoo sterke contractie van het protoplasma te vermijden, zoo kan men op de volgende wijze te werk gaan. Suikerwater van 25 pCt. en salpeter van 5 pCt. plasmolyseeren de cellen van *Spirogyra* in gelijke mate en slechts zwak, de protoplast rondt zich slechts aan de uiteinden der cilindrische cellen eenigzins af. In dezen toestand voegde ik aan de oplossingen een weinig opgelost azijnzuur ijzer toe. Dit had een vermindering van de concentratie van de suiker (resp. van den salpeter), en dus een uitzetten en barsten der protoplasten tengevolge. Bij het barsten kwam de inhoud der vacuole met het door den celwand binnen gedrongen ijzerzout in aanraking, en zag ik den reeds vroeger beschreven colloïdalen neerslag van blauw looizuur ijzer ontstaan. Dit verstopte de barst somwijlen ook hier, waarop de protoplast dan andermaal kon barsten en zulk een neerslag geven. Vooral met behulp van verwarming was dit duidelijk te zien. In de celwanden ontstond geen neerslag, evenmin in den protoplast, de chlorophylkorrels of de kernen, niettegenstaande deze natuurlijk bij het barsten stierven.

3. Herhaalt men deze proeven met een slappere suiker-oplossing, dus met een nog geringeren graad van plasmolyse, dan is er, vóór het barsten, tusschen den protoplast en den celwand natuurlijk slechts een zeer kleine ruimte, waarin zich het ijzerzout begeven kan. Dit heeft dan tengevolge, dat de barst niet door den ontstaanden neerslag verstopt wordt. Het ijzerzout diffundeert dan van de gebarsten plaats uit langzaam in de vacuole, en ik kon zijn voortschrijden gemakkelijk volgen, daar de neerslag van looizuur ijzer natuurlijk in gelijke mate zich in de celholte verspreidde. Langzaam zag ik de hoeveelheid van dezen neerslag toenemen, eindelijk was de geheele vacuole er mede gevuld. Doch ook hier hadden noch de celwanden, noch de protoplast, de kern en de chlorophylbanden eenig spoor van door het ijzerzout aantoonbaar looizuur. Met behulp van verwarming kon ik dit resultaat verkrijgen in cellen, waarin ternauwernood het eerste begin van plasmolyse zichtbaar was, en die dus zoo weinig mogelijk van den normalen toestand afweken.

In al deze gevallen was de neerslag dus geheel en al tot het celvocht beperkt.

Het bewijs voor de stelling, dat het looizuur zich in de levende cellen alleen in het celvocht bevindt, kan ook nog op eene andere wijze geleverd worden, gelijk blijkt uit de volgende proef, die Dr. Moll mij mededeelde. Deze bracht draden van *Spirogyra* in een mengsel van twee deelen verzadigde salpeteroplossing en een deel eener verzadigde oplossing van chroomzure kali. Daarin werden in vele cellen de buitenste lagen van het protoplasma zonder contractie gedood, terwijl de wanden der vacuolen zich isoleerden en zich tot blazen in de celholte contraheerden. Tijdens het sterven van het uitwendige protoplasma was dus het looizuur-reagens reeds aanwezig, toch ontstond noch in de celwanden, noch in de chlorophyl-banden en kernen een neerslag. Alleen in de vacuolen was de bruine neerslag met de bekende eigenschappen ontstaan, nadat ook hare wanden gestorven waren. Het mengsel had vóór het onderzoek 3½ uur ingewerkt. Werden de draden nu met water uitgewasschen, daarna met alkohol en aether uitgetrokken om de chlorophyl-kleurstof te verwijderen, en eindelijk langzaam in aanraking gebracht met verdunde glycerine, zoo verkreeg men, nadat de glycerine door verdamping meer geconcentreerd geworden was, zeer fraaie praeparaten.

Uit de medegedeelde waarnemingen meen ik te mogen afleiden, dat, niettegenstaande bij de gewone wijze van uitvoering der reactiën bij *Spirogyra nitida* looistof dikwerf in wanden, protoplasten, celkernen en chlorophylkorrels wordt gevonden, deze stof in de levende cellen toch uitsluitend in het celvocht voorkomt.

De beschreven methoden zullen, naar ik vertrouw, bij eene toepassing op andere gewassen er toe kunnen bijdragen ook voor deze de plaats van het looizuur in de cellen met grootere zekerheid te bepalen, dan tot nu toe mogelijk was.

(Maandblad voor Natuurwetenschappen 12e Jrg. 1885, blz. 91).

PLASMOLYTISCHE STUDIEN ÜBER DIE WAND DER VACUOLEN.

INHALT.

I.

Ueber eine Methode, die Wand der Vacuolen sichtbar zu machen.

Einleitung.

Es ist eine alte Frage, ob jede Vacuole im pflanzlichen Protoplasma von einer eigenen Membran umgeben, und namentlich ob sie vom beweglichen Theile des Protoplasten und den von diesem mitgeführten grösseren und kleineren Körpern durch eine solche getrennt ist. Die directe mikroskopische Beobachtung stösst hier auf derartige Schwierigkeiten, dass auch die geübtesten Forscher nicht zu übereinstimmenden Resultate gelangt sind. Während Einige mit Sicherheit aus ihren Wahrnehmungen glauben ableiten zu können, dass die fragliche Schicht nicht nur häufig so zart ist, dass man sie nicht sehen kann, sondern thatsächlich nicht existirt, nehmen Andere ihre Existenz aus verschiedenen Gründen mit Bestimmtheit an.

Während schon Brücke seine Meinung dahin ausgesprochen hatte, dass eine klare Einsicht in den Bau und die Bewegungen des Protoplasma ohne die Annahme einer besonderen Wand der Vacuolen nicht zu erlangen sei, fand diese Auffassung bis vor wenigen Jahren ihren eifrigsten und begabtesten Vertheidiger in Hanstein. Zum letzten Male in seinen Vorträgen über das Protoplasma [1]) betonte er die Nothwendigkeit der Annahme einer solchen Wand. Freilich konnte auch er dieses Organ durchaus nicht immer deutlich sehen, und für manche Fälle gab er zu, dass es auf dem ersten Blick den Anschein haben möchte, als ob die von den Strömen fortbewegten Körnchen den Fäden und Strängen des Protoplasma äusserlich anhaften und frei in den Zellsaft hineinragen. Aber bei genauerer Untersuchung, z. B. in den scharfen Winkeln zwischen den Stromästen, konnte er sich überzeugen, dass sie dennoch von einer feinen Membran überzogen seien [2]). Es würde mich

---

1) Hanstein, Das Protoplasma als Träger der pflanzlichen und thierischen Lebensverrichtungen, 1880, S. 157 u. a. a. O.

2) l. c. S. 159.

zu weit führen, seine Argumente hier ausführlich darzulegen, und ebenso wenig ist es hier der Ort, die Beweisgründe seiner Gegner zusammenzustellen und kritisch zu beleuchten. Denn obgleich die erörterte Frage für das richtige Verständniss des ganzen Aufbaues des protoplasmatischen Zellleibes offenbar von der höchsten Bedeutung ist, so lässt sich doch kaum erwarten, dass sie nach der bis jetzt befolgten Methode der directen mikroskopischen Beobachtung zur definitiven Entscheidung gebracht werden wird. Vielmehr scheint es wünschenswerth, ihre Lösung auf einem ganz anderen Wege zu versuchen.

Ein solcher Weg bot sich mir in dem Studium der Veränderungen, welche das Protoplasma während eines langsamen Todes erleidet. Tagelanges Verweilen von mikroskopischen Schnitten aus frischen Geweben in Lösungen indifferenter Substanzen oder der Zusatz äusserst geringer Mengen giftiger Verbindungen, ja sogar ein langsames Erwärmen bis genau an die Temperaturgrenze des Lebens, alle diese Einflüsse machen das Protoplasma langsam sterben. Dabei verhält sich nun die Wand der Vacuolen anders, als die übrigen Theile des Protoplasma. Denn die letzteren sterben rasch, sie sind nach häufig kurzer Zeit starr und wie geronnen, während die Wand der Vacuole noch Stunden, ja nicht selten Tage lang in einem anscheinend unveränderten Zustande bleibt.

Wenn man nun diesen Vorgang mit dem der Plasmolyse verbindet und dadurch eine Verkleinerung der Vacuolen und ein Zusammenziehen ihrer Wand veranlasst, so gelingt es meist leicht, diese letztere sichtbar zu machen, ja bisweilen sie völlig vom umgebenden Protoplasma zu isoliren. Es ist klar, dass man zu diesem Zweck sehr verschiedenartige Reagentien verwenden kann, am zweckmässigsten zeigte sich mir aber die Anwendung von Lösungen leicht diffusibler Salze, und zwar in einer viel stärkeren Concentration, als zu einer normalen Plasmolyse erforderlich ist. Wenn nicht besondere Umstände Anderes erheischen, benutze ich stets eine zehnprocentige Lösung von Kalisalpeter, und färbe diese mittelst Eosin schwach roth, um stets auf dem ersten Blick die lebendigen Plasmatheile von den todten unterscheiden zu können. Denn die ersteren nehmen den Farbstoff nicht auf, die letzteren färben sich damit dunkelroth.

Weitaus die meisten Zellen ertragen eine plötzliche Einwirkung dieser Salpeterlösung nicht, sie fangen früher oder später an zu sterben, und zwar in der oben beschriebenen Weise: Hautschicht, Kern, Chlorophyllkörper und weiches Plasma erstarren, die Wand

der Vacuolen bleibt aber noch stundenlang frisch und gespannt und für Farbstoffe undurchlässig. Man erkennt sie dann als eine farblose Kugel mit gespannter Wand in dem vom Eosin gefärbten Zellenraume, während die übrigen Partien zusammengeschrumpft und vom Farbstoff intensiv tingirt sind. Ein Blick auf die beiden ersten Tafeln lässt in den meisten Figuren diesen Zustand sofort erkennen (Taf. I und II).

Die in dieser Weise isolirten Blasen können noch Stunden, bisweilen Tage lang wenigstens einen Theil ihrer ursprünglichen Eigenschaften beibehalten, wenn sie auch selbstverständlich wohl nie normal und gesund, sondern wohl stets mehr oder weniger verändert sein werden. Namentlich behalten sie oft lange Zeit das Vermögen, Farbstoffen den Durchgang völlig zu wehren. Schliesslich aber verlieren sie dieses Vermögen stets. Desgleichen pflegen sie anfangs dehnbar und elastisch zu sein, später aber zu einer steifen und spröden, spannungslosen Haut zu erstarren. In jener Periode aber, wo das äussere Protoplasma bereits todt, die Vacuolenwand aber noch dehnbar und gespannt und für Farbstoffe impermeabel ist, ist letztere eines genauen Studiums fähig. Dieses veranlasste mich, in den folgenden Abschnitten die wichtigsten Eigenschaften dieses Organes in jener Periode ausführlich zu schildern.

Die physiologische Bedeutung der Vacuolenwandung liegt wesentlich darin, dass sie die innerste lückenlose Schicht um den Zellsaft bildet, und dass sie, wie wir im dritten Abschnitt erörtern werden, für die gelösten Stoffe dieses Saftes impermeabel ist. Denn dadurch bildet sie eine Membran, welche die äusseren Theile der Protoplaste von jenen Stoffen trennt, und somit eine Anhäufung im Zellsaft auch von sonst dem Leben gefährlichen Stoffen erlaubt. Dazu kommt dass auch die Production und die Anhäufung der osmotischen Stoffe des Zellsaftes, allem Anscheine nach, Functionen dieses Organes sind (vergl. § 4).

Ein eingehendes Studium dieses Organes fordert also vor Allem eine ausführliche Vergleichung seiner Eigenschaften mit denjenigen der übrigen Organe der Protoplaste, und namentlich mit der Hautschicht. Denn nur durch ein solches Studium lässt sich eine Ueberzeugung über die wahre Natur und Bedeutung dieses bis jetzt so sehr verkannten Theiles des pflanzlichen Protoplasma gewinnen.

Andererseits aber ist die Kenntniss der Veränderungen, welche die Wand der Vacuolen nach dem Tode der übrigen Plasmatheile namentlich in ihrer Permeabilität erleidet und der merkwürdigen

plasmolytischen Erscheinungen, durch welche diese sich kund geben, nicht nur für das Studium des betreffenden Organes selbst, sondern namentlch auch für die plasmolytische Methodik von Interesse. Denn bei plasmolytischen Versuchen ist man häufig, zumal bei längerer Versuchsdauer, oder bei nicht völlig unschädlichen Lösungen, der Gefahr ausgesetzt, dass die äusseren Theile des Protoplasma sterben und dass nur die Wand der Vacuole, anscheinend unverändert, oft aber thatsächlich mit in hohem Maasse veränderten osmotischen Eigenschaften, übrig bleibt. Dazu kommt, dass bei schwachen Vergrösserungen und in nicht oder nur schwach plasmolysirten Zellen es häufig schwer zu entscheiden ist, ob dieser Zustand bereits eingetreten ist oder noch nicht. Es ist daher einerseits erforderlich zu wissen, welche Vorsichtsregeln man zu beachten hat, um die erwähnte Gefahr nicht zu fürchten zu brauchen 1), andererseits aber die Erscheinungen genau zu kennen, welche die verschiedenen plasmolytischen Reagentien in solchen partiell getödteten Zellen hervorrufen.

Diese Ausführungen weisen uns unsere Aufgabe für die beiden folgenden Abschnitte an. Im zweiten werden wir die Wand der Vacuolen möglichst eingehend mit den übrigen Organen der Protoplaste vergleichen, im dritten aber die Veränderungen ihrer Permeabilität während des langsamen Sterbens studiren.

Wünscht man für die Wand der Vacuolen einen besonderen Namen, so schlage ich vor, darin ihre Analogie mit den übrigen Organen der Protoplaste und namentlich mit den von Schimper entdeckten Amyloplasten, sowie mit Arthur Meyer's Trophoplasten zum Ausdruck zu bringen. Es empfiehlt sich dann das Wort *Tonoplast*, oder Turgorbildner, welches ihre oben hervorgehobene Bedeutung für das Zustandekommen osmotischer Druckkräfte in der Zelle, wie mir scheint, am einfachsten zurückgiebt 2).

Keine Pflanze eignet sich so vortrefflich zum Studium und zur Demonstration dieser Tonoplaste, wie die *Spirogyren*, und unter diesen besonders die Formen mit steilen und schmalen Chlorophyllbändern. In seiner Schrift über die Chromatophoren der Algen hebt Schmitz die *Spirogyren* als ein Beispiel derjenigen Zellen her-

---

1) Diese Regeln habe ich in einem Aufsatze in Opera II S. 128, „Zur plasmolytischen Methodik" mitgetheilt, und bei meinen Untersuchungen „Ueber eine Methode zur Analyse der Turgorkraft" in Opera II S. 137, angewandt.

2) *τονος*, Turgor; vergl. auch Opera I, S. 129.

vor, an denen man öfters ganz deutlich die Protoplasmaschicht zwischen den Chlorophyllkörpern und der Vacuole erkennen kann[1]. Zumal ist solches an jenen Stellen der Fall, wo die vom Kern ausstrahlenden Fäden sich an das wandständige Plasma anheften. An Zellen, welche durch mechanische Eingriffe zum Absterben gebracht und nachher mit Hämatoxylin gefärbt oder mit Pikrinsäure erhärtet waren, konnte er diese innere Grenzschicht des wandständigen Protoplasma vielfach sehr deutlich unterscheiden.

Aus dem angeführten Grunde werde ich die Erscheinungen, welche die Vacuolen der *Spirogyra nitida* unter der Einwirkung einer zehnprocentigen Salpeterlösung darbieten, in den beiden nächsten Paragraphen ausführlich bescheiben und im dritten Paragraphen den Nachweis zu liefern versuchen, dass die Wand der Vacuole allgemein im Pflanzenreich in den verschiedenartigsten Zellsaft enthaltenden Zellen, mittelst dieser Methode, sichtbar gemacht werden kann.

§ 1. Beobachtungen an Spirogyra nitida bei langsamer Einwirkung der plasmolytischen Reagentien.

Taf. I, Fig. 1—7.

Seit mehreren Jahren cultivire ich *Spirogyra nitida* in grossen Aquariumgläsern und in flachen, erdenen Schüsseln in einem Raume neben meinem Arbeitszimmer, wo sie stets von oben her ein hinreichendes, oft ein ziemlich starkes Licht erhält. Die Pflanzen wachsen sehr üppig und sind stets äusserst reich an Stärke; bei Behandlung mit Jod werden die Fäden tiefschwarz. Ihre Zellen sind von sehr ungleicher Länge, bisweilen nur wenig länger wie breit, erreichen sie oft eine 4—5mal grössere Länge; in beiden Fällen gleich vor der Theilung. Die Chlorophyllbänder zeigen aber noch grössere Verschiedenheit. Waren die Zellen während mehrerer Tage nur schwach beleuchtet, so tritt die Stärke in den Hintergrund und die Bänder sind breit, lebhaft grün und mit schön gezacktem Rande. Je stärker aber die Beleuchtung, um so blasser und schmäler werden die Bänder, um so undeutlicher die Zackungen des Randes. Gar häufig scheint das ganze Band nur aus einer Reihe von grösseren und kleineren Stärkekörnern zu bestehen. In den meisten Zellen sind die Bänder nur schwach spiralig gewunden, oft pro Zelle nicht mehr als eine halbe Schraubenwindung beschreibend; bisweilen aber noch viel weniger steil.

---

1) F. Schmitz, Die Chromatophoren der Algen, Bonn 1883, S. 26.

Bringt man die Fäden in 1—2 procentige Lösungen von Kalisalpeter, so beobachtet man darin keine Veränderungen. Stärkere Lösungen, zumal 10procentige, rufen aber die Erscheinung der Plasmolyse hervor. Es lässt sich dabei meist nicht wohl vermeiden, dass das Reagens in einige Zellen rascher, in andere aber langsamer eindringt, und dass man also die verschiedensten Arten der Einwirkung in demselben Präparate in bunter Abwechslung erblickt. Diesen für die Demonstration offenbar günstigen Umstand wollen wir aber bei der Beschreibung möglichst ausser Acht lassen und die Folgen des raschen Eindringens des Salzes sämmtlich für den nächsten Paragraphen aufbewahren.

Bei langsamer Einwirkung erfolgt eine normale Plasmolyse. Es hebt sich das Protoplasma anfänglich an den Ecken, dann von den Endflächen, später auch von den Seitenwänden ab, indem es sich immer mehr der Kugelform nähert, diese aber nur in den kleineren Zellen wirklich erreicht. Zahlreiche äusserst feine Fäden verbinden wenigstens anfänglich die Hautschicht mit der Zellhaut. Die Chlorophyllbänder sind einander näher gerückt und dadurch häufig mehr oder weniger undeutlich geworden (Taf. I, Fig. 1). Hat man die Salpeterlösung mit Eosin schwach roth gefärbt, so dringt der Farbstoff, wie bekannt, zwar durch die Zellhaut hindurch, nicht aber in das Protoplasma hinein.

Wenn man nun solche, in normaler Weise plasmolysirte Zellen unter dem Deckglase Stunden lang in der zehnprocentigen Salpeterlösung aufbewahrt, so kann man darin die auf Taf. I, Fig. 2—7 abgebildeten Veränderungen beobachten. Die Figuren stellen aber nur einzelne typische Fälle aus dem fast unerschöpflichen Formenreichthum der eintretenden Erscheinungen vor. Nach ½—2 Stunden fangen die äusseren Schichten des Protoplasma an zu sterben, wobei sie stellenweise zerreissen, sich contrahiren und den Farbstoff aus der umgebenden Salzlösung in sich anhäufen [1]. Die Wand der Vacuolen trägt aber zunächst keine Zeichen irgend welcher Veränderung und bleibt zumal dehnbar und elastisch und impermeabel für das Eosin. Die Vacuolen liegen somit als farblose Kugeln im blassrothen Zellenraum. In den Chlorophyllbändern combinirt sich die natürliche grüne Farbe mit der des Eosins zu einem tiefen Braun. Am interessantesten sind aber die Folgen der allmähligen Contraction der äusseren Schichten des Protoplasma

1) Das Eosin färbt die gestorbenen Plasmatheile in der Salpeterlösung weit intensiver als in wässeriger Lösung.

bei ihrem lansamen Tode. Denn dadurch üben sie einen Druck auf die von ihnen eingeschlossenen Vacuolen aus. Bisweilen werden diese dabei stellenweise eingeschnürt; meist aber zerreist das sterbende Protoplasma an einem oder an beiden Enden und schiebt sich dann allmählig von den lebenden Zellsaftblasen ab, diese stellenweise entblössend (Fig. 2, 3). Je nachdem die Contraction nun rasch oder langsam vor sich ging, sind die Veränderungen kleinere oder grössere. Denn im ersteren Falle behalten die Theile nahezu die Lage, welche sie vor dem Tode einnahmen, im letzteren aber können die Vacuolen langsam fortgeschoben und dadurch endlich mehr oder weniger aus den todten Hüllen befreit werden. In Fig. 3 sieht man sie halbwegs, in Fig. 4 und 5 sieht man einzelne vollständig herausgeschoben; todtes Protoplasma haftet ihnen nicht mehr an. Einen ähnlichen Zustand bildet Fig. 6 ab, hier sind aber gleichzeitig die Chlorophyllbänder völlig desorganisirt, und haftet der einen Vacuole äusserlich noch eine Partie des todten Plasma an (Fig. 6t) [1]).

Das Heraustreten der von ihrer Wand umgebenen Vacuolen aus dem übrigen Protoplasma während des Sterbens sah ich zu wiederholten Malen unter meinen Augen stattfinden. Einen solchen Fall habe ich z. B. in Fig. 7 A und B abgebildet. Es war dieses eine beim Präpariren geknickte Zelle, welche ich behufs des Zeichnens wieder nahezu gerade gebogen hatte. Fig. 7 A stellt den Zustand sofort nach dieser Behandlung dar. Während ich nun die Zeichnung mit der Camera lucida aufnahm, zeichnete und färbte, schobsich die Vacuole β allmählig weiter aus dem übrigen Protoplasma hervor, bis sie endlich sich von diesem völlig befreite (B). Bisweilen sieht man deutlich, dass die Contractionen beim Sterben, wohl in Folge der plötzlichen Aufhebung gewisser Widerstände, stossweise vor sich gehen, und dass bei diesen Stössen die Vacuolen herausgeschoben werden. Häufiger aber kommt es vor, dass ein äusserer Druck in dieser Richtung mithelfen muss. Durch schwachen Druck auf das Deckglas oder durch vorsichtiges Biegen eines Fadens gelang es mir mehrfach Vacuolen zu befreien. Bewahrt man die Präparate längere Zeit auf und verdunstet nun die Flüssigkeit

1) In den Figuren ist zwischen dem todten Protoplasma und der Zellhaut eine feinkörnige Masse abgebildet, welche den ganzen Zellenraum mit einem äusserst feinen Niederschlag erfüllt. In Eosin farben sich die Körnchen deutlich dunkelroth. Vor dem Tode des äusseren Protoplasma beobachtete ich diese Körnchen nicht (Fig. 1). Ihre Natur blieb mir unbekannt. Auf Taf. IV habe ich diese Körnchen in den Figuren nicht eingezeichnet.

am Rande des Deckglases, so drückt letzteres stärker auf die Fäden, und in diesen beobachtet man dann zahlreiche ausgetretene Vacuolen.

Das Austreten der Vacuolen wurde bei verschiedenen *Spirogyra*-Arten bereits von den älteren Autoren beobachtet. Da sie aber ihre Lösungen nicht färbten, blieb ihnen die Bedeutung der Erscheinung unbekannt. In Karsten's „Histologischen Untersuchungen" (1862) findet man auf Taf. III mehrere Figuren, in denen kugelförmige Blasen in den Zellen neben dem übrigen contrahirten Inhalt liegen. In den „Pflanzenphysiologischen Untersuchungen" von Nägeli und Cramer (Heft I) bildet Nägeli auf Taf. II in Fig. 10 A und B einen Fall ab, in welchem offenbar die Vacuole durch die sich contrahirenden Chlorophyllbänder seitlich zwischen diesen hindurch gepresst wird. Aehnliche Beobachtungen führt Hofmeister in seiner „Lehre von der Pflanzenzelle" S. 70 u. 71 von *Oedogonium* und *Spirogyra* an. Ohne Zweifel werden auch andere Mikroskopiker ähnliche Zustände beobachtet haben, denn unter vielen Hunderten von Präparaten mit plasmolysirten *Spirogyren* kam es mir nur selten vor, dass solche in keiner Zelle eingetreten wären 1).

§ 2. Beobachtungen an Spirogyra nitida bei rascher Einwirkung der plasmolytischen Reagentien.

Taf. I. Fig. 8—11.

Dringt die Salpeterlösung rasch in die Zellen ein, so verursacht sie oft keine normale Plasmolyse, sondern tödtet sofort die äusseren Schichten des Protoplasten, und es bleibt nur die Wand der Vacuole am Leben. Es kann dieses so plötzlich geschehen (Taf. I, Fig. 8), dass die Hautschicht und die Chlorophyllbänder sich nicht merklich contrahiren, sondern ihre ursprüngliche Wandlage auch im todten Zustande beibehalten. Die Vacuole wird dann innerhalb des vom todten Protoplasma umschlossenen Raumes frei und zieht sich zu einer oder mehreren Kugeln zusammen, welche bei Anwesenheit von Eosin als farblose Blasen in der rothen Flüssigkeit sichtbar sind. Häufig verfolgte ich die Contraction dieser Blasen

1) Bei *Siphoneen* und anderen grosszelligen Algen, die in Alkohol conservirt waren, beobachtete Schmitz vielfach eine Spaltung des wandständigen Protoplasma in zwei Schichten. Nach seiner Beschreibung vermuthe ich, dass die innere Schicht, welche sich stärker contrahirte als die äussere, dieselbe war als die hier beschriebene Wand der Vacuole. Vergl. Die vielkernigen Zellen der Siphonocladiaceen. S. 41.

vom Anfang an. Zuerst haben sie selbstverständlich eine cylindrische Form, indem sie dem äusseren Protoplasma überall dicht angeschmiegt sind, mit Ausnahme der Mitte der Zelle, wo sie den Kern und das den Kern befestigende Protoplasma berühren. Ich sah sie sich zuerst an ihren Enden ablösen, den Cylinder kürzer, aber nicht gleichzeitig dünner werden; bald waren sie in der Längsansicht fast genau viereckig und erst dann fingen sie an, sich zu Kugeln abzurunden. Es beweist diese Beobachtung auch, wenn das noch nöthig sein sollte, dass die kugeligen Blasen factisch keine anderen Gebilde sind, als die schon in der normalen lebendigen Zelle vorhandenen Wandungen der Vacuolen.

Je nach der Länge der Zelle, ihrem Alter nach der letzten Theilung und der Art und Weise des Eindringens der Salzlösung, wechselt die Zahl der Vacuolen in diesen Versuchen. Die grosse findet man meist zu zwei in jeder Zelle, bisweilen zu vier, oft aber nur eine einzige. Die kleineren Vacuolen, welche oft aus der Umgebung des Kernes herrühren (Fig. 9), wechseln noch mehr in der Zahl. Wie gross auch ihre Anzahl sein möge, stets sind sie, wenigstens die grössten unter ihnen, durch Spaltung aus der ursprünglichen Vacuole der intacten Zelle entstanden, wie ich solches im nächsten Abschnitt § 1 beschreiben werde. Man vergleiche auch die Fig. 1 auf Taf. IV.

Zwischen diesem Falle und den im vorigen Paragraphen beschriebenen Erscheinungen findet sich nun stets eine ganze Reihe von Uebergängen. Denn wenn das äussere Protoplasma, beim Eindringen des Salzes, nur langsam stirbt und also doch noch theilweise plasmolysirt wird, so werden Zustände erreicht werden müssen, wie sie in den Figuren 9 und 10 abgebildet sind. Das Protoplasma hat die Wand allseitig verlassen und sich auf ein kleineres Volumen zusammengezogen, ohne aber die Contraction so weit fortführen zu können, wie dieses bei der normalen Plasmolyse, z. B. in Fig. 1, der Fall sein würde. Dadurch blieb den Vacuolen die Gelegenheit offen, sich innerhalb der sterbenden Hautschicht mehr oder weniger vollständig zu Kugeln zu contrahiren, ähnlich wie in der in Fig. 8 abgebildeten Zelle.

Auch in Rohr- und Traubenzuckerlösungen beobachtete ich dieselben Erscheinungen, wenn auch bei Weitem nicht so häufig wie in Salzlösungen.

Hübsche Bilder bekommt man, wenn man zu den Präparaten, welche Zellen wie die in Fig. 8, 9 und 10 abgebildeten enthalten, einen kleinen Tropfen einer schwachen Jodlösung in Jodkalium

zusetzt. Wirkt diese in voller Stärke ein, so tödtet sie die Zellsaftblasen und diese schrumpfen zusammen, wo sie aber durch die Salpeterlösungen hinreichend verdünnt ist, färbt das Jodium nur die Stärkekörner blau, wird dabei aber so vollständig absorbirt, dass die Saftblasen keinen Schaden nehmen. Man sieht dann diese letzteren als gespannte, lebendige Blasen inmitten der blaugefärbten Stärkekörner. Enthält die Lösung Eosin, so sind die Blasen farblos in der röthlichen Flüssigkeit und ist die Erscheinung also noch auffallender. Es ist selbstverständlich, dass dieser Zustand nur ein bald vorübergehender ist, wenn man einem weiteren Eindringen des Jodiums nicht sofort vorbeugt.

Bis jetzt habe ich die normale Plasmolyse als durch langsames, die Contraction der Vacuolen innerhalb der nicht oder nur wenig contrahirten Hautschicht als durch rasches Eindringen des Salzes verursacht, betrachtet. Es geschah dieses in Uebereinstimmung mit der bereits von Hofmeister 1) erwähnten Erfahrung, dass die Protoplaste der *Spirogyren* sich beim langsamen Tode contrahiren und von der Zellhaut zurückziehen, beim plötzlichen Tode aber, z. B. beim Eintauchen in kochendes Wasser, oft ohne merkliche Contraction erstarren. Es schien mir aber keineswegs überflüssig, diese Auffassung auch durch directe Versuche zu beweisen. Es kann dieses in sehr verschiedener Weise geschehen. Brachte ich wenige *Spirogyra*-Fäden in zehnprocentige Salpeterlösung ohne Deckglas, so beobachtete ich nach wenigen Minuten überall die zuletzt genannte Contraction der Vacuolen. Brachte ich dagegen ähnliche Fäden in eine geringe Menge derselben Lösung unter Deckglas, und wurde die die Zellen zunächst umgebende Flüssigkeit also beim Eindringen in die Zellen rasch verdünnt, so dauerte es lange Zeit, bevor die Plasmolyse eintrat, diese war aber fast überall eine normale. Letzteres war sowohl in krankhaften als in völlig gesunden Fäden und sowohl mit breiten grünen als in solchen mit schmalen blassen Chlorophyllbändern der Fall. Brachte ich Fäden in 4—5 pCt. Salpeter, so trat in fast allen Zellen allmählig eine normale Plasmolyse, wenn auch in geringem Grade, ein. Solche Fäden, jetzt plötzlich in die zehnprocentige Lösung, in einem Uhrgläschen gebracht, zeigten nachher gleichfalls in allen Zellen die normale Plasmolyse, nun aber bedeutend verstärkt. Dasselbe erreichte ich, als ich die Fäden erst in eine Lösung von etwa 13 pCt. Rohrzucker

1) Hofmeister, Die Lehre von der Pflanzenzelle, S. 11.

(isotonisch mit etwa 2½ pCt. KNO_3) brachte und nachher plötzlich in die zehnprocentige Salpeterlösung tauchte.

Bekanntlich diffundiren Rohr- und Traubenzucker viel langsamer als Salpeter. Dementsprechend dringen sie auch langsamer in die Zellen ein und verursachen sie deshalb relativ viel mehr normale Plasmolyse und viel seltener die Erscheinung der alleinigen Contraction der Vacuolen. Nicht selten fand ich sogar in Zuckerlösungen von derselben wasseranziehenden Kraft, wie die zehnprocentige Salpeterlösung, in allen Zellen normale Plasmolyse. Die Concentration dieser Lösungen war für Traubenzucker 27 pCt. (= 1,5 Mol.) und für Rohrzucker 51 pCt. (= 1,5 Mol.). Ebenso in starkem Glycerin.

Auch diese Versuche lehren also, dass ein langsames Eindringen normale Plasmolyse zur Folge hat, ein rasches aber bald den Tod der äusseren protoplasmatischen Schichten herbeiführt. Ob die Zellen gesund oder krankhaft, grün oder blass, mit schönen breiten oder mit schmalen Chlorophyllbändern ausgestattet und reich oder arm an Stärke sind, hat, wie soeben bemerkt, auf diese Erscheinungen höchstens einen sehr untergeordneten Einfluss. Auch beobachtete ich sie alle nicht nur an den cultivirten *Spirogyren*, sondern auch an frisch im Freien eingesammelten Material und andererseits an Fäden, welche über eine Woche im Dunkeln verweilt hatten. Auch sind die Erscheinungen keineswegs auf die *Spirogyra nitida* beschränkt, denn ich habe sie bei mehreren anderen Arten dieser Gattung, wenn auch nicht in gleich schöner Weise, zurückgefunden.

§ 3. Beobachtungen an anderen Arten.

Taf. II, Fig. 1—11.

Die in den beiden vorigen Paragraphen beschriebenen Erscheinungen habe ich, ausser bei verschiedenen Arten der Gattung *Spirogyra*, noch mehr oder weniger vollständig bei einer langen Reihe von höheren Pflanzen und in den verschiedensten Organen und Geweben angetroffen, und ich zweifle nicht, dass man sie bei weiterem Forschen gleichfalls bei allen übrigen Gewächsen, vielleicht mit Ausnahme der allerniedrigsten, zurückfinden wird. Ueberall, wo Zellen turgesciren, besitzt nach meiner Ueberzeugung die Vacuole eine eigene Wand.

Die folgenden Beispiele mögen genügen, um das allgemeine Vorkommen dieses Organes darzuthun. Ich beschreibe zuerst diejenigen Fälle, in denen in der normal plasmolysirten Zelle die Wand der Vacuole das äussere Protoplasma überlebte (Taf. II, Fig. 3,

6, 7 und 11), in zweiter Linie aber jene, wo das Protoplasma sofort beim Eindringen des Reagens starb und sich nicht contrahiren konnte, wo also die Vacuole innerhalb des todten Zellinhaltes völlig isolirt wurde (Taf. II, Fig. 1, 2, 4, 5 und 9). Die ersteren sind den für *Spirogyra* in § 1 beschriebenen Vorgängen analog, die letzteren aber den in § 2 behandelten.

Tradescantia discolor (Taf. II, Fig. 6). Die violetten Zellen der Oberhaut auf der Unterseite der langen schmalen Blätter dieser Art bilden eins der besten Materialien zum Studium der plasmolytischen Erscheinungen. Ein Präparat dieser Oberhaut wurde in zehnprocentige Salpeterlösung gebracht, welche mit Eosin schwach roth gefärbt war; nach einiger Zeit wurde der Farbstoff mit farbloser Salpeterlösung möglichst gut ausgewaschen. In fast allen Zellen war der Inhalt stark plasmolysirt und meist noch einseitig der Wand angeschmiegt. Das Protoplasma war überall todt und roth gefärbt, der Kern dunkler. In vielen Zellen, wie z. B. in Fig. 6 B war die Hautschicht noch mit einigen oder zahlreichen feinen oft verzweigten Fäden mit der Zellhaut verbunden; wo diese Fäden nicht zu dünn waren, hatten sie eine deutliche rothe Farbe. Die Vacuolen enthielten noch den violetten Farbstoff, dessen Farbe jetzt selbstverständlich dunkler war als in den normalen Zellen. Neben der grossen Vacuole waren bisweilen 1—2 oder auch mehrere kleinere vorhanden, wie in Fig. 6 A. In den Vacuolen lagen grosse dunkle runde Körner, welche ich in den normalen Zellen nicht gesehen hatte.

Innerhalb des todten Protoplasma behielt also die Wand der Vacuolen ihre Eigenschaft, dem Farbstoff des Zellsaftes den Durchgang völlig zu verhindern, sie war also wenigstens in dieser Beziehung noch unverändert. Auch strebten sie fortwährend, sich zu Kugeln abzurunden. Während der Ausarbeitung der Figur gelang dieses der grösseren Vacuole in der Zelle A, und nach vier Stunden fand ich überall im Präparat die Vacuolen bedeutend stärker abgerundet als gleich nachdem ihre Contraction vollendet war. Nach kürzerer oder längerer Zeit fängt die Farbe an zu verblassen; bisweilen geschieht dies plötzlich, wohl durch ein Platzen der Blase, bisweilen sehr langsam. So verschwand noch während des Zeichnens eine der beiden kleineren Vacuolen in A völlig, und waren nach vier Stunden die Vacuolen in mehreren Zellen schon verblasst, in anderen aber noch mit unveränderter Farbe.

Dass der rasche Tod des äusseren Protoplasma eine Folge des plötzlichen Eindringens des Reagens war, geht aus folgendem Con-

trolversuch hervor. Es wurden Präparate erst eine halbe Stunde in 2 pCt., dann ebenso lange in 5 pCt. und erst nachher in 10 pCt. Salpeterlösung gebracht. Die Plasmolyse war jetzt eine normale; zugesetztes Eosin färbte weder das Protoplasma noch die Kerne.

Lässt man normal plasmolytische Zellen längere Zeit in den Lösungen liegen, so pflegt erst das äussere Protoplasma zu sterben, während die Saftblasen noch längere Zeit für den Farbstoff der Vacuole impermeabel bleiben. So z. B. nach viertägigem Aufenthalt in Lösungen von schwefelsaurem Kali, von schwefelsaurer Magnesia. Junge Zellen zeigen dieselbe Erscheinung früher, so z. B. in Salpeter- und in Kochsalzlösungen schon nach 24 Stunden. Setzt man dem Salze eine Säure zu, z. B. Salzsäure oder Salpetersäure (0,1—0,2 Aeq.), so sind in den ausgewachsenen Zellen schon nach wenigen Minuten das äussere Protoplasma und der Kern todt, während die Wand der Vacuole häufig noch 6—12 Stunden, bisweilen sogar noch länger, für den Farbstoff impermeabel bleibt. Auch andere Gifte, z. B. schwache Jodlösung haben denselben Erfolg und zwar sowohl in plasmolysirten als in nicht plasmolysirten Zellen. Im dritten Theile dieses Aufsatzes werden wir diesen Umstand benutzen, um die Diffusions-Eigenschaften der Vacuolenwände nach dem Tode des übrigen Protoplasma, eingehender zu studiren.

Curcuma rubricaulis, rothe Epidermiszellen der Blattscheide. Bei den Versuchen des dritten Theiles wurde wiederholt constatirt, dass das äussere Protoplasma und der Kern gestorben und dunkelgefärbt waren, während die Wand der Vacuole den Farbstoff des Zellsaftes noch nicht hindurchliess. Die meisten dort zu behandelnden Versuche beziehen sich, wie für *Tradescantia*, gerade auf diesen Zustand.

Agave americana, Taf. II, Fig. 7. Längsschnitte aus einem erwachsenen Blatte in zehnprocentiger, mit Eosin gefärbter Salpeterlösung. Ueberall sieht man nach einiger Zeit die Zellinhalte zu grossen Kugeln contrahirt, deren Inhalt das Eosin nicht aufnimmt. Die Blasen sind die Wände der Vacuolen; ihnen haftet äusserlich das übrige, gestorbene Protoplasma mit rother Farbe an. Am schönsten ist die Erscheinung in den kleineren Zellen in der Umgebung der Gefässbündel.

Allium Cepa, Taf. II, Fig. 10, 11. Längsschnitte aus der schuppenförmigen, in der Zwiebel beschlossenen Basis eines Blattes. Zellen noch jung. Die mit Eosin roth gefärbte zehnprocentige Salpeterlösung wurde vor dem Zeichnen der Fig. 11 mit farbloser Sal-

peterlösung von derselben Stärke ausgewaschen, um die todten Protoplasmatheile schärfer hervortreten zu lassen. In allen Zellen war nach einiger Zeit der Inhalt völlig plasmolysirt, aber das äussere Protoplasma und der Kern hatten den Farbstoff absorbirt und waren also gestorben, während die Vacuolen keinen Farbstoff aufgenommen hatten. Auch war, wie in der Figur 11 ersichtlich, das äussere Protoplasma ohne Spannung. So lange die Hautschicht lebt, bildet sie bei der Plasmolyse genau eine Kugel, der der Kern auf der Innenseite anliegt, wie man sehen kann, wenn man die starke Salzlösung nicht mit einem Male, sondern in stufenweise zunehmender Concentration einwirken lässt, oder wenn man an ihrer Stelle eine Zuckerlösung anwendet. Diesen Zustand habe ich in Fig. 10 abgebildet, welche die normale Plasmolyse in einer Rohrzuckerlösung von 25 pCt darstellt und in welcher die Kerne und das äussere Protoplasma noch lebendig und somit von Eosin nicht gefärbt sind. Lässt man solche Zellen aber in der Lösung, bis die Hautschicht stirbt, so nimmt die Vacuole, genau so wie beim plötzlichen Eintauchen in die zehnprocentige Salpeterlösung, Kugelform an, während der Kern ihr jetzt äusserlich anliegt; die osmotische Spannung findet sich jetzt also nur noch in den Vacuolen.

Eine halbe Stunde später fingen die Zellsaftblasen im Präparate an zu sterben und schrumpften zusammen; die gezeichneten Zellen waren aber nach dieser Zeit noch unverändert; ihre Vacuolen starben erst nach einer weiteren Stunde.

Funkia ovata. Auf Längsschnitten des unteren Theiles eines jungen Blattstieles beobachtete ich sowohl die normale Plasmolyse, bei der der Kern, ähnlich wie dieses für die vorige Art in Fig. 10 abgebildet ist, innerlich der kugelförmigen Hautschicht anlag, als auch den Zustand, in welchem Kern und Protoplasma gestorben waren und äusserlich der noch lebenden Wand der Vacuole, die jetzt die Kugelform angenommen hatte, anhafteten, wie dieses soeben für *Allium Cepa* in Fig. 11 dargestellt wurde.

Imatophyllum miniatum. Auf Längsschnitten ganz junger, noch gelbgefärbter Blätter beobachtete ich im Parenchym in der rothen zehnprocentigen Salpeterlösung ähnliche Zustände, wie der in Fig. 11 abgebildete, aber auch Zellen, in denen das Protoplasma sich nur wenig contrahirt hatte, bevor es starb und wo sich somit die Vacuole als lebendige, farblose Blase im inneren des halbwegs contrahirten Protoplasten zusammenzog.

Lomaria zamioides, Taf. II, Fig. 3. Epidermis der Blattoberseite, in zehnprocentiger rother Salpeterlösung. Plasmolyse anfangs

normal, aber nach 1—2 Stunden starben die äusseren Theile der Protoplaste ab, während die Zellsaftblasen noch längere Zeit farblos und gespannt blieben. Ihnen haften äusserlich die rothen Kerne und braunen Chlorophyllkörner sowie die Reste der Hautschicht an.

Hydrocharis Morsus Ranae, Taf. II, Fig. 8. Die Wurzelhaare dieser Pflanze dienen bekanntlich als Beispiel für die Rotation des Protoplasma. Ihre normale Plasmolyse ist von Hofmeister in seiner „Lehre von der Pflanzenzelle" S. 52 abgebildet und beschrieben worden. Er lehrte, dass die Rotation noch fortschreitet, nachdem das Protoplasma unter der Einwirkung der plasmolytischen Reagentien sich bereits in mehrere Theile gespalten hat. Brachte ich die Objecte in zehnprocentige Salpeterlösung, so starb die Hautschicht und das strömende Protoplasma in den meisten Haaren bald, wobei es sich von der Wand zurückzog und sich mit Eosin dunkel färbte. Die Vacuole aber spaltete sich in zahlreiche Theile, welche sich unter der wasserentziehenden Wirkung des Salzes verkleinerten und eine mehr oder weniger kugelige Form annahmen. Sie nahmen das Eosin nicht auf und lagen also als farblose Blasen im rothen Protoplasma. Bei Verdünnung der umgebenden Salzlösung sah ich die Vacuolen platzen und ihre Wand zusammenschrumpfen.

Wir kommen jetzt zu denjenigen Fällen, in denen sich nicht das Protoplasma, sondern nur die Vacuolen contrahirten, und fangen an mit:

Vallisneria spiralis, Taf. II, Fig. 1. In den Parenchymzellen der Blätter dieser Pflanze, welche gleichfalls ein sehr bekanntes Beispiel für die Rotationsbewegung bilden, ruft zehnprocentige Salpeterlösung die verschiedensten Formen der Plasmolyse hervor. Die beiden Extreme habe ich in Fig. 1 A und B abgebildet. Die Zelle A stellt einen Fall der normalen Plasmolyse, welche in meinen Versuchen in weitaus den meisten Zellen eintrat, dar; der ganze Protoplast ist allseitig von der Zellhaut isolirt, mit Ausnahme von einzelnen feinen Fäden, welche stellenweise von ihm zur Zellwand laufen. Die Vacuole hat sich in zwei Theile gespalten, zwischen diesen ist das Protoplasma zu einem dünnen Faden ausgezogen. Der Zellsaft ist in der roth gefärbten Umgebung farblos geblieben, ebenso der Kern (k) und die Hautschicht; die Chlorophyllkörner sind noch grün. In B ist dagegen die Hautschicht gestorben, ohne sich zu contrahiren, ihr haften der rothe Kern (k) und die jetzt braunen Chlorophyllkörner an.

Die Vacuole hat sich in vier Theile getrennt, welche jetzt als Blasen mit gespannter Wand und farblosem Inhalt in der rothen Salzlösung liegen (*v*). Andere Zellen zeigten wieder andere Zustände; so verkehrten z. B. einige in dem Zustand, der auf Taf. I in Fig. 2 für *Spirogyra* abgebildet ist. Wieder in anderen war das Protoplasma nicht contrahirt und lag die Vacuole als eine grosse Blase von cylindrischer Form in der Mitte der Zelle.

Tradescantia virginica, Taf. II, Fig. 4. Die violetten Haare der Staubfäden, dieses vielfach studirte Beispiel der Circulationsbewegung, habe ich gleichfalls unter der Einwirkung der zehnprocentigen Salpeterlösung untersucht. Auch für diese Zellen hat Hofmeister (Die Lehre von der Pflanzenzelle, S. 51) die normale Plasmolyse abgebildet und beschrieben. Er benutzte dieselbe Salpeterlösung und sah, dass unter deren Einwirkung die den Zellsaft durchziehenden Protoplasmastränge sofort eingezogen wurden; spülte er nach kurzer Zeit das Salz mit Wasser aus, so wurden nach 10—12 Minuten neue Stränge und Fäden vom wandständigen Protoplasma aus in die Vacuole gestülpt. Als ich selbst die Haare aus einer nahezu geöffneten Blüthenknospe in die zehnprocentige Salpeterlösung brachte, beobachtete ich gleichfalls in weitaus den meisten Zellen eine normale Plasmolyse, in anderen dagegen starb das äussere Protoplasma unter der Einwirkung des Reagens, entweder während es sich contrahirte, oder ohne Spur von Ablösung von der Zellhaut, wie in Fig. 4. Dabei contrahirten sich die Vacuolen zu kugeligen Blasen (*v*), welche den jetzt dunkler gefärbten Zellsaft enthielten; die Wand der Vacuolen liess diesen nicht durch. Als ich Eosin zufügte, färbte sich das Protoplasma roth, der Kern (*k*) dunkler, die Vacuolen nahmen diesen Farbstoff aber nicht auf. Bisweilen sah ich innerhalb eines gestorbenen Protoplasten zwei bis drei oder sogar mehrere lebendige Vacuolen. Genau dieselben Erscheinungen beobachtete ich auch an den Haaren der Staubfäden der verwandten *Tradescantia rosea*.

Philodendron rotundifolium. Weisse Spitzen der sonst braunen Luftwurzeln. Sowohl in der parenchymatischen Rinde wie in den Elementen des jungen Gefässbündels tödtete die Salpeterlösung die äusseren Schichten des Protoplasma rasch und zogen sich innerhalb dieser die Vacuolen zusammen, wobei sie sich, je nach der Länge der Zelle in mehr oder weniger zahlreiche Theile spalteten. Letztere sah ich als farblose kuglige Blasen in der vom Eosin gefärbten Umgebung. Kerne dunkelroth.

Hyacinthus orientalis, Taf. II, Fig. 2. Die abgerissene Oberhaut eines Zwiebelschuppens in zehnprocentiger Salpeterlösung mit Eosin. In fast allen Zellen war das Protoplasma wandständig geblieben und sammt dem Kern (*k*) roth gefärbt; die Vacuolen zu mehreren grösseren und kleineren farblosen Blasen (*v*) contrahirt. Dasselbe sah ich in der Oberhaut eines Blattes und in der eines Blüthenschaftes. Auch die Oberhaut der Zwiebelschuppen von *Allium Cepa* zeigte diese Erscheinung in gleicher Ausprägung.

Pachyphytum bracteatum, Taf. II, Fig. 9. Eine grosse Parenchymzelle aus dem Blatte dieser Crassulacee. Versuchsanordnung und Erfolg wie bei *Hyacinthus*. Vacuolen meist in jeder Zelle eine grosse und zahlreiche relativ sehr kleine Blasen mit farblosem Inhalt bildend. Dasselbe in der Blattoberhaut mehrerer anderer Crassulaceen, wie z. B. von *Rochea falcata*. Bei stufenweiser Zunahme der Concentration der Salpeterlösung zeigten die Zellen desselben Gewebes von *Pachyphytum* normale Plasmolyse.

Ilex aquifolium, Taf. II, Fig. 5. In vielen Zellen des Fruchtfleisches stirbt das Protoplasma in der Salpeterlösung sofort, ohne sich zu contrahiren, und es kann sich die Vacuole also von den übrigen Theilen des Inhaltes isoliren (*v*). Der Kern (*k*) bleibt wandständig und färbt sich dunkel. Häufig sieht man dabei zahlreiche kleine farblose Vacuolen neben der einen grossen Blase. Nach 1—2 Stunden hat sich in den meisten Zellen der Zustand nicht verändert, dann aber fangen die Wände der Vacuolen an zu sterben und sich zu färben. In Zuckerwasser werden diese Zellen in normaler Weise plasmolysirt. Auch das Fruchtfleisch von *Symphoricarpus racemosa* zeigte die Isolirung der Vacuolen in der Salpeterlösung sehr schön.

Primula sinensis. In den Parenchymzellen des jungen Blattstieles sah ich in der rothen Salpeterlösung sowohl die normale Plasmolyse mit darauf folgendem partiellen Tode des Protoplasma (ähnlich wie in Fig. 7) als auch die Contraction der Vacuolen innerhalb der nicht contrahirten Hautschicht (wie z. B. in Fig. 9). Dasselbe beobachtete ich im Stengel von *Diclytra spectabilis*, *Delphinium Cheilanthus*, *Bryonia dioica*, *Sisymbrium strictissimum*, im Blattstiel von *Rheum rhaponticum* und bei vielen anderen Arten.

Drosera rotundifolia. In den Drüsenstielen auf den Blättern dieser Art zeigen die Zellen bekanntlich, bei der Aufnahme thierischer Nahrung, die Erscheinung der Aggregation. Auch in diesen

Zellen liess sich mittelst der Salpeterlösung die Wand der Vacuole leicht nachweisen 1).

§ 4. Die Wand der Vacuolen in den jüngsten Zuständen der Zellen.

Bis jetzt haben wir die Wand der Vacuolen in erwachsenen oder doch schon ziemlich weit in ihrem Wachsthum vorangeschrittenen Zellen aufgesucht. Hier enthielt jede Zelle nur Eine Vacuole. Offenbar war es nun wichtig, diese Wand auch in jüngeren Zuständen nachzuweisen, wo das Protoplasma noch schaumartig ist und die zahlreichen kleinen Vacuolen sich noch nicht zu einer einzigen vereinigt haben. Dabei lohnte es sich, zu versuchen, um wie junge Vacuolen man die Wand noch sichtbar machen könnte.

Es war nicht leicht, zur Beantwortung dieser Frage ein geeignetes Material zu finden. Ich fand dieses aber in den jüngsten Wurzelspitzen, und namentlich in denjenigen Zellen, welche später die weiten Xylemgefässe der Wurzeln bilden werden. In der Nähe des Vegetationspunktes sind diese Zellen noch weniger hoch als breit und können sie also auf Querschnitten studirt werden. Für dieses Studium benutzte ich zum Theil die in den vorigen Paragraphen beschriebene Methode, zum Theil auch Methoden, welche erst im zweiten Abschnitt entwickelt werden sollen. Ich verweise den Leser dafür also auf jenen Theil meines Aufsatzes.

Zea Mais. Von kräftig entwickelten Knotenwurzeln machte ich Querschnitte in einer Entfernung von etwa 2—3 mm von der Spitze; sie waren nur wenig dicker als die Gefässzellen hoch waren; die meisten dieser Zellen waren somit vom Schnitt getroffen, einzelne aber intact geblieben. Brachte ich die Schnitte in einer fünfprocentigen Zuckerlösung unter das Mikroskop, so war in den intacten Gefässzellen der schaumartige Bau des Protoplasma sehr schön zu beobachten. Auf optischen Durchschnitten zeigte es das Bild eines unregelmässigen Netzwerkes; die Vacuolen waren nur durch schmale Balken getrennt und durch gegenseitigen Druck zu mehr oder weniger eckigen Figuren geworden. Als ich darauf die Schnitte in die zehnprocentige Salpeterlösung brachte,

1) Ueber die Rolle, welche die Wand der Vacuole bei der Aggregation spielt, vergleiche man den weiter unten erscheinenden Aufsatz: *Ueber die Aggregation im Protoplasma von Drosera rotundifolia.*

trat in den meisten intacten Gefässzellen normale Plasmolyse ein. In einzelnen aber starb das äussere Protoplasma ohne vorherige Contraction oder doch gleich im Anfange der Contraction, und es rundeten sich die Vacuolen, innerhalb der sterbenden Schichten, zu zahlreichen kleinen Kugeln ab. Für andere Schnitte, in gleicher Enfernung von der Spitze genommen, hatte ich die Salpeterlösung mit Eosin schwach gefärbt; dieses wurde in den intacten aber nicht normal plasmolysirten Gefässzellen von den Zellkernen aufgenommen; letztere lagen dann als schön rothe Körper zwischen den zahlreichen farblosen Zellsaftblasen.

Diese Zellsaftblasen fand ich in den fraglichen Zellen in jeder Grösse. Die grössten waren etwa so gross wie die Zellkerne, von ihnen leiteten alle Uebergänge zu den kleinsten hinab, von denen es nicht mehr sicher zu sehen war, ob sie hohl oder massiv waren und welche sich also von den Amyloplasten dieser Zellen nicht unterscheiden liessen. Jodlösung liess die Kugeln verschwinden, wohl indem sie sie platzen liess. Beim vorsichtigen Erwärmen unter dem Mikroskope sah ich eine kleine kugelige Zellsaftblase platzen und zusammenschrumpfen. Sie war also thatsächlich eine Blase mit gespannter Wand und flüssigem Inhalt.

Gefässzellen mit normaler Plasmolyse, in derselben Entfernung von der Spitze auf Querschnitten untersucht, erwärmte ich in der eosinrothen Salpeterlösung langsam unter dem Mikroskope. Sobald die Zellen anfingen zu sterben, hörte ich mit dem Erwärmen auf. Die äusseren Schichten der contrahirten Protoplaste starben und färbten sich roth; die Kerne nahmen einen dunkleren Ton an. In zahlreichen solchen Zellen sah ich dabei Vacuolen als farblose Kugeln in der rothen Umgebung aus dem sterbenden Protoplasma austreten. Setzte ich jetzt die Erwärmung fort, so verschwanden die Blasen zumeist, wohl indem sie platzten und zusammenschrumpften; in anderen Fällen erstarrten sie und verloren ihre Impermeabilität für den Farbstoff.

Auch in den vom Schnitt getroffenen Zellen sah ich nicht selten, neben dem gestorbenen und contrahirten Protoplasten, einzelne kleine Vacuolen. Ich fand diese sowohl bei der Untersuchung in zehnprocentiger Salpeterlösung als auch in fünfprocentiger Zuckerlösung. Beim Erwärmen platzten sie und schrumpften zusammen und liessen dadurch ihre Natur als Blasen mit flüssigem Inhalt deutlich erkennen.

Endlich untersuchte ich auch Querschnitte in noch geringerer Entfernung vom Vegetationspunkt, um die Wand der Vacuolen in

noch jüngeren Stadien zu beobachten. Es gelang dieses bis in einer Entfernung nur 1 mm von der Spitze; wo das Protoplasma der Gefässzellen noch nicht schaumartig war, sondern nur zahlreiche kleine kugelförmige Vacuolen enthielt. Als das Protoplasma dieser Zellen durch die mehrfach genannte rothe Salpeterlösung bis auf die Vacuolenwände getödtet war, zeigten sich diese als farblose Kugeln, welche nicht merklich grösser waren als die Amyloplaste, aber dennoch bei langsamem Erwärmen deutlich platzten und zusammenschrumpften.

Diese Beobachtungen lehren, dass die Vacuolen schon bei ihrem ersten Auftreten im Protoplasma von einer eigenen Wand umgeben sind, welche sich durch dieselben Merkmale wie im erwachsenen Zustand der Zellen von den übrigen Theilen des Protoplasten unterscheidet.

Ob diese Wand, wie ich annehmen muss, vor den Vacuolen als solider Körper da ist, und den Zellsaft in ähnlicher Weise in sich bildet als die Amyloplaste die Stärkekörnchen, gelang mir bis jetzt nicht zu entscheiden, weil ich kein Mittel besass, solche Zustände von wirklichen Amyloplasten unter dem Mikroskop zu unterscheiden.

Iris Pseudacorus. In den jüngsten kräftig wachsenden Wurzelspitzen dieser Pflanze konnte ich die an *Zea Mais* gemachten Beobachtungen sowohl auf Längs- als auf Querschnitten bestätigen. Und zwar vorwiegend in den jungen Gefässzellen des Xylems, zum Theil aber auch in ganz jungen Parenchymzellen. In den Gefässzellen, welche noch nicht höher als breit waren, sah ich auch hier in der Eosin-rothen Salpeterlösung neben dem todten Protoplasten und dem rothen Kern kugelförmige farblose Zellsaftblasen. Bisweilen lagen sie zu 1—2, bisweilen in grösserer Anzahl in derselben Zelle. Aehnliches sah ich in den jungen Zellen der Rinde in der unmittelbaren Nähe des Meristems.

Uebersicht der Resultate.

Ueberall im Pflanzenreiche und in den verschiedensten Gewebeformen besitzen die Vacuolen eine eigene Wand, welche durch Anwendung unserer zehnprocentigen Salpeterlösung unter Mithülfe von Eosin leicht sichtbar gemacht werden kann.

Die mitgetheilten Versuche lehren uns ferner, dass diese Wand der Vacuolen überall weit resistenter ist gegen die Einwirkung jener Salpeterlösung als die übrigen Theile des Protoplasma.

Wenn die letzteren in Folge dieses Eingriffes völlig gestorben sind, können die Tonoplaste noch Stunden, oft Tage lang am Leben bleiben und haben dabei, wenigstens anfangs, anscheinend die nämlichen Eigenschaften, welche sie im normalen Verbande besassen. Namentlich sind sie für Farbstoffe, sowohl die des eigenen Zellsaftes (Taf. II, Fig. 4 und 6), wie für Eosin und andere künstliche Färbemittel, impermeabel und besitzen sie das Vermögen, sich unter der wasserentziehenden Wirkung des Salzes zu Kugeln abzurunden.

Denselben Unterschied in der Resistenzfähigkeit habe ich bei den Versuchen des II. und III. Abschnittes vielfach auch gegenüber anderen Reagentien beobachtet. Im Besonderen gegen solche, welche nicht gleichzeitig plasmolysirend wirken, wie z. B. verdünnte Säuren, sehr verdünnte Lösungen verschiedener anderer Gifte. Und zwar sowohl, wenn diese gleichzeitig mit unschädlichen plasmolytischen Reagentien einwirkten (vergl. z. B. Taf. III, Fig. 1), als auch ohne diese Hülfe, und also ohne Contraction der Vacuolen (vergl. § 2 des Anhanges).

Die bedeutende Resistenz der Vacuolenwandung ist also nicht etwa ein besonderes Verhalten gegen die Salpeterlösung, sondern eine ganz allgemeine, wesentliche Eigenschaft. Sie deutet auf eine grössere Dichte ihrer Substanz hin und steht ohne Zweifel damit im Zusammenhang, dass diese Wand die gelösten Stoffe des Zellsaftes vom übrigen Protoplasma trennt.

Diejenigen Versuche, in denen es gelang, die Vacuolen innerhalb oder ausserhalb der gestorbenen Ueberreste der Protoplaste völlig zu isoliren, lehren ferner, dass ihre Wand sich glatt von dem übrigen Protoplasma trennt und also eine auch auf dieser Seite scharf begrenzte Membran darstellt. Möge nun diese Grenze im normalen Verbande mit den übrigen noch lebenden Theilen des Protoplasten der Beobachtung bis jetzt stets entgangen sein, so ist ihre Existenz durch die beschriebenen Versuche doch vollgültig nachgewiesen [1]).

---

1) Erst nachdem die vorliegende Arbeit bereits der Redaction von Pringsheim's Jahrbücher zugesandt war, fand ich bei Klebs folgende, für die im Texte vorgetragene Lehre höchstwichtige Beobachtung. Bei verschiedenen Arten der Gattung *Euglena* können die Vacuolen noch ruhig fortpulsiren, nachdem das Cytoplasma durch Druck oder durch Wärme getödtet ist, und Augenfleck und Chlorophyllkörper anfangen zu desorganisiren. Dieses Pulsiren konnte Stunden lang anhalten. Auch hier ist somit die Wand der Vacuolen schädlichen Einflüssen gegenüber weit resistenter als das übrige Protoplasma. Vergl. Arb. des bot. Instit. in Tübingen, I, Heft 2, S. 250.

Der Nachweis der Vacuolenwandung mittelst zehnprocentiger Salpeterlösung geschah im Allgemeinen unter den folgenden drei Hauptformen:

1. Es trat normale Plasmolyse ein; nachher starb das äussere Protoplasma, verlor seine Spannung und färbte sich mit Eosin, während die Vacuole farblos und ihre Wand gespannt blieb (Taf. II, Fig. 3, 6, 7, 11). In den Zellen der *Spirogyra* zerriss das äussere Protoplasma häufig und stiess bei seiner Contraction die Vacuole ganz oder theilweise aus (Taf. I, Fig. 1—4).
2. Die Hautschicht wurde momentan fixirt; der Kern und die Chlorophyllkörper haften ihr im todten Zustande an; die Vacuolen ziehen sich zu kugeligen Blasen zusammen und liegen also frei im Zellenraum (Taf. I, Fig. 8; Taf. II, Fig. 1 B, 2, 4, 5 und 9).
3. Der Protoplast wurde zwar in normaler Weise plasmolysirt, starb aber während dieses Processes, oft lange bevor die Contraction beendet war. Innerhalb des erstarrten und nur wenig contrahirten Körpers isolirten sich die Vacuolen zu mehr oder weniger freien, kugeligen Blasen (Taf. I, Fig. 9 und 10).

II.

Ueber die Wand der Vacuolen als besonderes Organ der Protoplaste.

Einleitung über den Aufbau der Protoplaste aus Organen.

In seinen Vorträgen über das Protoplasma als Träger der pflanzlichen und thierischen Lebensverrichtungen [1]) hat Hanstein über diesen wichtigsten Theil der Zelle eine bedeutend klarere Vorstellung, als die bis dahin herrschende, ausgesprochen. Allgemein betrachtete man das Protoplasma als eine schleimige, die Zelle mehr oder weniger ausfüllende Substanz, in der bestimmte Organe, wie Zellkern und Chlorophyllkörner leicht unterschieden werden konnten. Hanstein aber wies darauf hin, dass jedem von einer Zellhaut umschlossenen sogenannten Protoplasmakörper eine eigene Individualität zukommt, dass jeder eine, wenn auch

1) Hanstein. Das Protoplasma als Träger der pflanzlichen und thierischen Lebensverrichtungen. Heidelberg 1880. I. Vortrag.

reichlich gegliederte, Einheit darstellt, und in gewissem Sinne als ein kleiner Organismus betrachtet werden darf. Und um diesem Gedanken auch in der Bezeichnungsweise Ausdruck zu verleihen, schlug er für jene Individuen den Namen *Protoplaste* vor. Ohne Zweifel wird dieses glücklich gewählte Wort allmählig allgemein Eingang finden, und die üblichen äusserst ungeeigneten Ausdrücke, wie Protoplasmakörper, Protoplasmaklümpchen oder gar Protoplasmatropfen nach und nach ersetzen.

In Ermangelung eines geeigneten Namens für den lebendigen Inhaltskörper der Zelle hat man sich in der letzten Zeit auch wohl daran gewöhnt, das Wort Protoplasma selbst in zweifacher Bedeutung zu gebrauchen. Einmal in dem alten, ihm von seinem Urheber beigelegten Sinne, in welchem es die halbflüssige stickstofffhaltige Substanz ist, „welche das Material für die Bildung des Nucleus und des Primordialschlauches liefert", und aus der die ersten festen Bildungen der künftigen Zelle hervorgehen [1]). Daneben aber benutzte man das Wort Protoplasma auch, um den aus dieser Substanz aufgebildeten, morphologisch differenzirten Körper im Inneren der Zelle anzudeuten. Indem nun dieser letzte Begriff zweckmässiger durch den von Hanstein eingeführten Namen bezeichnet wird, können wir das Mohl'sche Wort seinen alten Sinn behalten lassen.

Dass die Protoplaste wenigstens denselben Anspruch auf Individualität besitzen wie die grösseren morphologischen Glieder der Pflanze, geht aus Allem, was wir über ihr physiologisches und ihr anatomisches Verhalten wissen, unwiderleglich hervor. Zwar haben die Untersuchungen von Tangl, Gardiner, Russow und Anderen dargethan, dass die Protoplaste benachbarter Zellen ganz allgemein mit einander durch feine Fortsätze ihres Körpers verbunden sind, sie hören dadurch aber keineswegs auf, sowohl im physiologischen als im morphologischen Sinne, Individuen zu sein [2]). Denn jene feinen Verbindungsstränge, welche allem Anscheine nach in der Mehrzahl der Fälle eine Folge unvollständiger Theilung sind, sind ganz denjenigen Fortsätzen ähnlich, durch welche die einzelnen Individuen der Kolonien-bildenden Rhizopodenarten in Folge der unvollständigen Theilung ihrer Mutter-

1) Mohl, Bot. Zeit. 1846, S. 75.

2) Vergl. hierüber aber auch Klebs, Ueber die neuen Forschungen betreffs der Protoplasmaverbindungen benachbarter Zellen, Bot. Zeit, 1884, S. 443, woselbst auch die betreffende Literatur ausführlich citirt ist.

thiere mit einander zusammenhängen [1]). Und ebenso wenig, wie die Vereinigung zu einer solchen Kolonie die Individualität der einzelnen Thiere aufhebt, ebenso wenig können offenbar die Protoplasmastränge in den Tüpfeldurchbohrungen die Individualität der pflanzlichen Protoplaste aufheben.

Auch über die Gliederung der Protoplaste in Organe herrschte noch vielfach keine scharfe und unseren damaligen Kenntnissen völlig entsprechende Vorstellung. Die meisten Forscher scheinen diese Gliederung nur theilweise anzuerkennen, indem sie eine unbestimmte Grundmasse annehmen, in der nur hier und da scharf umschriebene Organe liegen. Nach dieser Ansicht sind der Zellkern, die Chlorophyllkörper und die Farbstoffkörper „*Organe, welche im Protoplasma eingebettet liegen*" [2]), das übrige Protoplasma wird aber als nicht oder nur unvollständig gegliedert betrachtet. Andere dagegen nehmen auch hier eine bestimmte Gliederung an [3]).

Schimper's Entdeckung der Amyloplaste und ihrer Vermehrung durch Theilung hat für unsere Betrachtungen über den Aufbau der Protoplaste aus Organen ein neues Stadium eröffnet [4]). Zwar wusste man aus den Arbeiten Nägeli's und Hofmeister's, dass die Stärkekörner nur im Protoplasma entstehen und wachsen, und dass ihr Wachsthum aufhört, sobald sie durch irgend eine Ursache in den Zellsaft gerathen, aber allgemein wurde die stärkebildende Thätigkeit, mit Ausnahme der Chlorophyll-führenden Zellen, als eine nicht weiter localisirte Eigenschaft des ganzen Protoplasma betrachtet. Man meinte, dass überall im Protoplasma Stärke entstehen konnte. Schimper aber lehrte, dass diese Funktion keineswegs eine dem Protoplasma als solchem zukommende Eigenschaft ist, sondern stets und überall an ganz bestimmten, morphologisch differenzirten Organen gebunden ist.

Damit war aber die Bahn gebrochen. Denn jetzt drang sich immer mehr die Frage hervor, ob nicht auch andere Funktionen, welche bis dahin dem gesammten Protoplasma zugeschrieben waren, in derselben Weise nur von besonderen Organen ausge-

---

1) Bütschli in Bronn's: Klassen und Ordnungen des Thierreichs, Bd. I, 2. Aufl., S. 144.

2) A. Meyer, Das Chlorophyllkorn, 1883, S. 83.

3) Pfeffer, Pflanzenphysiologie, 1880, I, S. 31.

4) A. F. W. Schimper, Untersuchungen über die Entstehung der Stärkekörner, Bot. Ztg. 1880, S. 881, und: Ueber die Entwickelung der Chlorophyllkörner und Farbstoffkörner, Bot. Zeit. 1883, S. 105.

übt werden könnten. Werden nicht auch die Krystalle, die sogenannten Krystalloïde, die Oel- und Gerbstoffkörper von besonderen Organen gebildet? Und stellt nicht auch das strömende Protoplasma ein eigenes, häufig selbst vielfach gegliedertes Organ dar, dessen Funktion der Stofftransport in der Zelle ist?

Eine specielle Bedeutung haben diese Gesichtspunkte für die uns hier zunächst beschäftigenden Vacuolen. Genau so, wie man annahm, dass überall im Protoplasma Stärkekörner entstehen könnten, dachte man sich auch, dass überall Vacuolen gebildet werden könnten. Und da man auf die im Zellsaft gelösten Stoffe noch wenig achtete, schien die Ausscheidung von etwa überflüssig aufgenommenem Wasser in Tropfenform ein sehr einfacher Process. Ueberträgt man aber die Schimper'sche Lehre auf die Vacuolen, so darf man annehmen, dass auch diese nur von eigenen, differenzirten, und vor ihrer Entstehung schon vorhandenen Organen der Protoplaste gebildet werden können. Häufen diese Organe den Zellsaft in ihrem Innern an, so müssen sie dadurch offenbar zu grossen, dünnen Blasen ausgedehnt werden, welche dann voraussichtlich auch die grössten Vacuolen noch umschliessen werden. Diese Blasen sind aber die im vorigen Abschnitt beschriebenen Tonoplaste.

Gehen wir nun noch einen Schritt weiter, und erheben wir uns von der Behandlung der einzelnen Organe zu der Betrachtung der ganzen Protoplaste. Ihre Gliederung, ihre Organisation muss man nach meiner Ansicht so auffassen, dass sie ausschliesslich aus bestimmten Theilen zusammengesetzt sind, deren jedes einer oder mehreren Funktionen angepasst ist. Neben und zwischen diesen bleibt, vielleicht mit Ausnahme der niedrigsten Organismen, im Protoplasten meiner Ansicht nach ebeso wenig eine unbestimmte Grundlage, der die einzelnen Theile eingebettet sein sollten, übrig, als zwischen den Blättern, Internodien und sonstigen Organen einer hochdifferenzirten Pflanze.

Allerdings sind die Grenzen zwischen den einzelnen Organen nicht immer deutlich zu sehen. Dieses gilt namentlich von derjenigen zwischen der Hautschicht und dem Körnerplasma. Beide sind getrennte Organe, welche, soweit unsere bisherige Erfahrung reicht, nie ineinander übergehen. Dennoch sieht man ihre Grenze nicht, aber genau dasselbe gilt von den Grenzen zwischen dem Körnerplasma und der Wand der Vacuole, und doch lassen sich diese beiden Theile hier mit voller Schärfe von einander trennen, wie im vorigen Abschnitt bewiesen wurde. Es ist nicht unmöglich,

dass man einmal ein Reagens auffinden wird, welches in ähnlicher Weise die Hautschicht sich vom Körnerplasma abheben und so deren Grenzlinie erkennen lassen wird [1]).

Giebt man zu, dass das Körnerplasma als das Organ der Plasmaströmungen und somit des Nährstofftransportes in der Zelle betrachtet werden muss [2]), so bleibt für eine nichtdifferenzirte hypothetische Grundmasse des Protoplasma nichts mehr übrig. Denn die Hautschicht und die Wand der Vacuole schliessen überall direct an das Körnerplasma an [3]). Die übrigen Organe, Chlorophyllkörner, Amyloplaste, Zellkern pflegen dem Körnerplasma eingebettet zu sein, sofern sie durch dessen Strömungen mitbewogen werden sollen, und gleichfalls sind unter den sogenannten Mikrosomen wahrscheinlich noch manche, welche als besondere, bis jetzt noch nicht erkannte Organe fungiren [4]).

Für die Begründung des Satzes, dass die Wand der Vacuole ein Organ der Protoplaste darstellt und dass sie, wie dessen übrigen Organe, aus lebendem Protoplasma aufgebaut ist, ist es nun durchaus erforderlich, sie ausführlich mit jenen anderen Gliedern und namentlich mit der Hautschicht zu vergleichen, denn nur ein solcher Vergleich kann uns zu einer vollen Ueberzeugung führen. Da aber die Hautschicht und das Körnerplasma bis jetzt am wenigsten als besondere Organe anerkannt wurden, so scheint es mir unerlässlich, ihre Ansprüche auf diese Bezeichnung hier kurz auseinander zu setzen.

Fangen wir mit der Hautschicht an. Sie ist das Organ der Zellhautbildung, bei den Amoeben und Myxomyceten das der Ortswanderung. Obgleich sie aus hyalinem Protoplasma zu bestehen pflegt, so liegt doch kein Grund vor, anzunehmen, dass alles ausserhalb vom Körnerplasma liegende hyaline Plasma der Hautschicht angehöre und dass somit Hyaloplasma und Hautschicht

---

1) Ich beobachtete einmal ein Präparat von *Spirogyra nitida*, in welchem in den meisten Zellen die Chlorophyllbänder sich stark contrahirt und dadurch von der Hautschicht isolirt hatten. Letztere liess sich durch Glycerin von der Zellhaut abheben und durch Jod färben. Die Chlorophyllbänder aber lagen, wie zu einem Seile zusammengewunden, an der einen Seite der Zellen.

2) Bot. Ztg. 1885, No. 1 u. 2.

3) Dass einzelne Theile dieses letzteren oft völlig frei von Körnchen sind, soll uns, in Ermangelung eines besseren Namens, einstweilen nicht verhindern, dieses bequeme Wort Strasburger's zu benutzen, ebenso wenig wie der Umstand, dass einzelne seiner Theile wohl stets in Ruhe bleiben, gegen die Funktion des Körnerplasma beim Transport der Nährstoffe spricht.

4) So z. B. wahrscheinlich inactive Tonoplaste (vergl. S. 350), „Oleoplaste" u. s. w.

identische Begriffe seien. Das die Körnchen führende Nahrungsplasma kann oft auf grösseren oder kleineren Strecken frei von körnigen Einschlüssen sein, ohne deshalb in Hautschicht überzugehen. Dass dem so ist, geht am klarsten aus den folgenden Beobachtungen hervor, welche Strasburger in seinen so inhaltsreichen *Studien über das Protoplasma* mittheilt [1]). Zerdrückt man die Schwärmsporen von *Vaucheria sessilis*, so tritt der Inhalt in Form von sich abrundenden Ballen heraus. Diese erscheinen als scharf contourirte, ihrer Hauptmasse nach farblose und homogene Kugeln, welche aber, wenn sie vom Körnerplasma allein gebildet sind, keine Zellstoffmembran bilden können und bald zu Grunde gehen. Ihre äussere hyaline Schicht darf man also nicht als Hautschicht betrachten. Stücke von Sporen, welche noch einen Theil der ursprünglichen Hautschicht enthalten, und denen es gelingt, sich derart abzurunden, dass sie allseitig von diesem Organe umgeben sind, bildeten dagegen in Strasburger's Versuchen sehr leicht eine Zellstoffhülle.

Dasselbe lehren uns die von Hanstein und Strasburger beschriebenen Vorgänge bei der Wundheilung an durchschnittenen Fäden der *Vaucheria* [2]). Die Ränder der Hautschicht biegen sich dabei zusammen, bis sie aneinander schliessen und so eine Kappe darstellen; aus dem Körnerplasma kann sich aber, wo dieses entblösst wurde, keine Hautschicht bilden.

Wäre die Hautschicht nur die hyaline Grundsubstanz des ganzen nicht differenzirten „Protoplasmakörpers", so wäre ein so auffallender Unterschied zwischen ihr und der factischen Grundsubstanz des Körnerplasma gar nicht zu erklären.

Für die selbständige Natur der Hautschicht sprechen auch die Differenzirungen, welche sie, namentlich während des Dickenwachsthums der Zellhäute aufweist. In den Schleuderzellen der Lebermoose bescheibt Dippel, wie die Hautschicht an denjenigen Stellen, an denen nachher die Spiralbänder gebildet werden sollen, zunächst beträchtlich an Dicke zunimmt und ein hyalines Band darstellt, auf dessen Innenseite sich die Strömchen des Körnerplasma bewegen [3]). Aehnlich fand er es in anderen Fällen der localen Zellhautverdickung.

1) Strasburger, Studien über das Protoplasma. Jenaische Zeitschrift für Naturwissenschaften, Bd. X, Heft 4, 1876, S. 415, 416.

2) Hanstein, Sitzungsber. der niederrhein. Ges., Bonn, Novbr. 1872 und Strasburger, l. c. S. 416.

3) L. Dippel, Die Entstehung der wandständigen Protoplasmaströmchen, in den Abhandl. d. Naturf.-Ges. zu Halle, Bd. X, 1867, S. 60.

Genau wie die Hautschicht in dem letzteren Falle ein aus ungleichwerthigen Theilen zusammengesetztes Organ ist, ebenso pflegt auch das Körnerplasma in sich selbst mehr oder weniger differenzirt zu sein. Seine Hauptaufgabe liegt in dem Transport der Nährstoffe von dem einen Punkte der Zelle nach dem anderen, oft auch in dem Fortschieben der Chlorophyllkörner und Amyloplaste und sogar der Zellkerne. Es ist äusserst schwierig, genau die Grenzen dieses Organes anzugeben, da weder das Vorhandensein oder Fehlen von Körnern, noch auch das Strömen dazu ein Mittel angeben. Sogar in den Zellen der *Charen* und *Nitellen* ist die Breite des Stromes keineswegs constant; der ruhende der sogenannten Indifferenzlinie anliegende Plasmastreifen wechselt seine Breite an derselben Stelle oft ganz bedeutend, indem ruhende Theile in Bewegung übergehen oder strömende zur Ruhe gelangen. Bisweilen breitet sich der ruhende Streifen beiderseits über mehrere Chlorophyllstreifen aus, in anderen Fällen berühren sich die beiden entgegengesetzt gerichteten Ströme. Aehnliches gilt von den wandständigen Circulationsströmen. Am wahrscheinlichsten kommt es mir vor, dass zwischen der Hautschicht und der Vacuolenwandung wenigstens in den meisten Fällen eine ununterbrochene Schicht liegt, deren einzelne Theile, je nach besonderen Differenzirungen und äusseren Einflüssen Körner führen können oder nicht, und strömen können oder sich in Ruhe befinden. Es wäre sehr wünschenswerth, für dieses Organ einen passenderen Namen als die bisher üblichen zu besitzen.

Kehren wir jetzt zu den Tonoplasten zurück, so müssen wir noch einige Betrachtungen über ihre ursächliche Beziehung zu der Entstehung der Vacuolen mittheilen.

Nach Nägeli und Pfeffer rührt das trübe Aussehen des Körnerplasma von winzigen Vacuolen her, denen sich körnig erscheinende Stoffe beigesellen 1). Solche winzige Vacuolen sind nun wohl ohne Zweifel auch von einer eigenen Wand umgeben 2), und es scheint, dem Verhalten junger Zellen entsprechend (vgl. Abschn. I, § 4, S. 341) nicht unmöglich, dass auch Tonoplaste ohne Vacuolen daneben im Körnerplasma vorkämen. Letztere wären dann

1) Pfeffer, Pflanzenphysiologie, I, S. 32.

2) Ob die zahlreichen kleinen Vacuolen, welche ich häufig bei der Behandlung von Zellen mit 10 pCt. KNO_3 beobachtete (z. B. Taf. XXII, Fig. 2 u. 5), dabei durch Abschnürung aus der grossen Vacuole entstehen oder bereits vorher im Körnerplasma vorhanden waren, habe ich leider zu untersuchen versäumt.

aber nicht von den sonstigen Mikrosomen zu unterscheiden. Die Tonoplaste dieser winzigen Vacuolen können wir mit denjenigen, welche noch gar keine Vacuole gemacht hätten, gegenüber der ausgiebigen Thätigkeit des einen, den eigentlichen Zellsaft einschliessenden Tonoplasten, als inactive bezeichnen. Solche inactive Tonoplaste wären also allgemein neben den activen in den Zellen vorhanden.

Es scheint mir, dass in all' den Fällen, wo man früher eine freiwillige Entstehung von Vacuolen im Protoplasma annahm, die beobachteten Erscheinungen weit besser erklärt werden durch die Vorstellung, dass jene winzigen Vacuolen zu grösseren heranschwellen oder dass die inactiven Tonoplaste in Thätigkeit gerathen.

Diese Deutung scheint mir zumal folgende Beobachtung Schimper's zuzulassen. In den blauen Blumenblättern von *Bilbergia* (*Tillandsia*) *amoena* haben die gesunden Zellen ein wandständiges Protoplasma und Einen centralen blauen Zellsaft. „Bei beginnendem Absterben in Folge der Praeparation," schreibt der genannte Forscher, „oder in welkenden Blüthen finden, wie ich es auch in anderen Fällen häufig beobachtet habe, Veränderungen in der Gestalt des Protoplasmakörpers statt, in Folge welcher neue Vacuolen auftreten und der bisher allein vorhandene Saftraum entsprechend an Grösse abnimmt und nicht selten durch Protoplasmawände getheilt wird. Der Farbstoff, der durch das Protoplasma nicht zu diffundiren vermag, bleibt in der ursprünglich reducirten Vacuole resp. den Theilungsproducten derselben, während die neu auftretenden Vacuolen nur farblosen Saft enthalten" 1).

Jene neuen, sich mit farblosem Saft füllenden Vacuolen dürften von bereits vorhandenen aber bis dahin inactiven Tonoplasten gebildet werden.

Auch die bekannten Erscheinungen der Vacuolenbildung, welche das aus Wunden von *Vaucheria*schläuchen und anderen grossen Zellen in Wasser oder in verdünnte Zuckerlösung austretende Protoplasma darbietet, lassen sich, meiner Ansicht nach, durch die Annahme inactiver Tonoplaste weit besser erklären als durch die übliche Vorstellung. Denn diese nimmt an, dass ein Theil des im Protoplasma vorhandenen Imbibitionswassers sich an beliebi-

---

1) Bot. Ztg. 1883, S. 127.

gen inneren Punkten sammelt und dort Tropfen bildet [1]). Doch es handelt sich hier nicht um Tropfen reinen Wassers, sondern um Lösungen von nicht unerheblicher osmotischer Kraft, sonst würden die einmal gebildeten Tröpfchen offenbar nicht zu grossen Vacuolen heranwachsen können. Auch ist diese Ausscheidung von Wasser an inneren Punkten selbst eine bis jetzt nicht weiter begründete Hypothese. Leider sind aber die betreffenden Vorgänge, obgleich von zahlreichen Forschern beobachtet und erwähnt, einem eingehenden Studium bis jetzt noch nicht unterworfen worden, und einem solchen muss also die Entscheidung der Frage, ob die Vacuolen hier an jedem beliebigen Punkte des Protoplasma, oder nur in bereits vorgebildeten Organen entstehen können, vorbehalten bleiben.

Hoffentlich werden die hier angeregten Fragen einmal durch Untersuchungen über die Entstehung der Tonoplaste ihre endgültige Lösung finden. Solche selbst anzustellen, würde aber die Veröffentlichung meiner ohnehin bereits über vier Jahre ausgedehnten Studien über diesen Gegenstand noch mehr verzögert haben, weshalb ich glaubte, darauf einstweilen Verzicht leisten zu dürfen.

Unsere allgemeinen Betrachtungen über die Tonoplasten als lebendige und den übrigen Organen der Protoplaste gleichwerthige Glieder dieses Lebensträgers dürfen wir nicht abschliessen, ohne ihre Beziehung zu der geistvollen Hypothese Nägeli's und Pfeffer's von der Plasmamembran kurz erörtert zu haben. Bekanntlich nehmen diese beiden Forscher an [2]), dass das Protoplasma sowohl auf der Aussenseite als auch auf der Grenze des Zellsaftes mit einer Niederschlagsmembran bekleidet ist, und dass es diesen sogenannten Plasmamembranen seine eigenthümlichen Diffusions-Eigenschaften verdankt. In Bezug auf die Beziehung der äusseren Plasmamembran zu der Hautschicht hat Pfeffer seine Vorstellung in der Weise formulirt, dass beide dort identisch seien, wo die letztere auf eine für die mikroskopische Betrachtung

1) Vergl. z. B. Sachs „Lehrbuch der Botanik", IV. Aufl., S. 42. Man lese auch die Bemerkungen Pfeffer's über diesen Punkt in seinen „Osmotischen Untersuchungen" S. 127 ff. und die daselbst citirte Literatur. Die dort in den Vordergrund gestellte Frage, ob die ausgetretenen Plasmaballen sich mit einer Plasmamembran umkleiden, ist offenbar eine ganz andere als die nach dem Ursprunge derjenigen Membranen, welche nur Vacuolen umgeben.

2) Nägeli, Pflanzenphysiologische Untersuchungen, I, 1855, S. 9. — Pfeffer, Osmotische Untersuchungen, Leipzig 1877, II. Theil, S. 121.

nicht mehr deutlich abgegrenzte Mächtigkeit zurückgeht, während im entgegengesetzten Fall nur die peripherische Zone jener Schicht die Plasmamembran darstellt 1).

Wenden wir diese Begriffsbestimmungen unseres Autors an, um uns über die Beziehung seiner inneren Plasmamembran zu unserer Vacuolenwandung aufzuklären, so kommt es offenbar darauf an, zu entscheiden, ob letztere eine für die mikroskopische Betrachtung deutlich abgegrenzte Mächtigkeit besitzt. Im lebenden Zustande gelang es mir nun nicht, genau auf den optischen Durchschnitt dieser Wand einzustellen; die glänzende Oberfläche der isolirten Blasen machte dieses unmöglich. Im getödteten Zustande zeigten sich mir aber die ohne Contraction erstarrten Zellsaftblasen der *Spirogyra nitida* schon bei dreihundertfacher Vergrösserung stets deutlich doppelt contourirt, wie in § 3 dieses Abschnittes noch des Näheren besprochen werden wird, und dasselbe fand ich bei den übrigen darauf geprüften Arten. Aus diesem Grunde können sie mit Bezug auf die soeben citirte Stelle aus Pfeffer's Handbuch, nicht mit der inneren Plasmamembran identificirt werden, sondern man muss sich diese als ihre innere Bekleidung, als ihre gegen den Zellsaft gerichtete Grenzschicht vorstellen. Uebrigens können auch schon deshalb die hypothetische Plasmamembran und die mittelst Salpeterlösung isolirbaren Schichten nicht identisch sein, weil jene todte Niederschlagsmembranen, diese aber lebendige 2) aus Protoplasma aufgebaute und, wie das Hervortreiben von Strängen und Fäden bei der Circulationsbewegung lehrt, mit autonomer Bewegung ausgestattete Organe der Protoplaste sind 3).

---

1) Pfeffer, Pflanzenphysiologie, I, S. 32.

2) Hierfür sprechen, mehr als andere, die Erscheinungen der Aggregation; vergl. hierüber den S. 483 citirten Aufsatz.

3) Vergl. hierüber die beiden folgenden Paragraphen. Das Erstarren der isolirten Vacuolenwandung (vergl. § 6) und die Zunahme ihrer Permeabilität, welche im letzten Abschnitte beschrieben werden soll, stimmen allerdings in mancher Hinsicht mit den nämlichen Veränderungen in künstlichen Niederschlagmembranen überein. Vgl. Archives Néerlandaises, Tom XIII, 1878, S. 344. Andererseits scheint Pfeffer in einigen seiner Versuche, so z. B. bei der Behandlung der Wurzelhaare von *Hydrocharis* mit verdünnter Salzsäure, bereits die Wand der Vacuolen im isolirten Zustande vor sich gehabt zu haben. Denn obgleich sich aus seinen kurzen Angaben der Sachverhalt nicht genau ableiten lässt, so scheint es mir doch aus meinen Versuchen unzweifelbar, dass in jenem Falle das äussere Protoplasma sterben musste, während die Vacuolenwandung noch einige Zeit, wenn auch

Nach obigen Auseinandersetzungen lässt sich nun unsere Aufgabe für die folgenden Paragraphen dieses Abschnittes genau zuspitzen. Wir wollen die Erscheinungen, welche uns die Wand der Vacuole theils im normalen Verbande, vorwiegend aber im isolirten Zustande darbietet, so eingehend wie möglich kennen lernen und sie jedesmal mit den betreffenden Eigenschaften der Hautschicht und der übrigen Organe der Protoplaste vergleichen. Denn von einem solchen vergleichenden Studium erwarten wir ja die Entscheidung über die Berechtigung meiner Ansicht, dass die Tonoplaste lebendige Organe der Protoplaste sind.

§ 1. Die Vermehrung der Vacuolen durch Theilung.

Als ein allgemeines Resultat der im ersten Abschnitt beschriebenen Versuche dürfen wir den Satz betrachten, dass die Zahl der Vacuolen in einer durch die zehnprocentige Salpeterlösung partiell getödteten Zelle häufig grösser und oft erheblich grösser ist als die vor dem Zusatze dieses Reagens vorhandene. Ein Blick auf die beiden ersten Tafeln (Taf. I u. II) genügt, um uns von der Richtigkeit dieser Behauptung zu überzeugen. Denn sie zeigen in Zellen, in denen bekannterweise im erwachsenen Zustande nur Ein grosser Saftraum zu liegen pflegt, deren zwei, drei oder vier, und daneben häufig noch eine ganze Reihe kleinerer. So vor Allem bei *Spirogyra* (Taf. I), ferner bei *Vallisneria*, *Hyacinthus*, *Hydrocharis* u. A. auf Taf. II, Fig. 1, 2 und 8. Und bei zahl-

---

nicht mehr gesund, überleben und den Eintritt von gelösten Farbstoffen in den Zellsaft verhindern konnte. Seine Versuche lassen wenigstens diese Deutung so gut wie die von ihm selbst gegebene zu. Vergl. Osmotische Untersuchungen S. 136 u. s. w. und Pflanzenphysiologie, I, S. 33.

Obgleich ich der Frage nach der Existenz der Plasmamembran kein eingehendes Studium gewidmet habe, so möchte ich doch bemerken, dass mir die in vorliegender Arbeit beschriebenen und noch zu beschreibenden Erfahrungen diese Hypothese nicht zu fordern scheinen, vielmehr dafür sprechen, dass die Diffusionseigenschaften der Protoplaste und der Tonoplaste durch den molecularen Bau der lebenden Substanz selbst bedingt sind. Wer den Fortschritten unserer Wissenschaft im letzten Jahrzehnt aufmerksam gefolgt ist, wird bemerkt haben, dass es von zahlreichen Erscheinungen, welche man früher auf rein physikalischem Wege erklären zu können glaubte, sich herausgestellt hat, dass sie nur unter der directen Mitwirkung des Lebens zu Stande kommen. Dasselbe dürfte sich, bei eingehender Untersuchung, ohne Zweifel von den so hochwichtigen osmotischen Eigenschaften der Protoplaste ergeben.

reichen anderen Arten habe ich ein gleiches Verhalten wahrgenommen.

Obgleich es kaum einem Zweifel unterliegen kann, dass diese zahlreichen Vacuolen wenigstens der Hauptsache nach durch Einschnürung und Theilung aus der ursprünglich vorhandenen entstanden sind, so halte ich es doch nicht für überflüssig, zur empirischen Begründung dieser Folgerung einige directe Beobachtungen anzuführen.

Von diesen habe ich eine auf Taf. IV in Fig. 1 A—C abgebildet; sie ist einem Präparate der *Spirogyra nitida* entnommen, das ich sofort nach dem Zusatze der zehnprocentigen Salpeterlösung unter Deckglas durchmusterte. In der in Fig. 1 A dargestellten Zelle fand ich die Vacuole zu einer einzigen langen Blase isolirt; das äussere Plasma hatte sich seitlich zu einer unscheinbaren grünen Masse contrahirt. Die Blase war bereits in der Mitte deutlich, wenn auch wenig, eingeschnürt. An einer Stelle nahm die Einschnürung zu und führte zur Trennung zweier Hälften, wie in Fig. 1 B angegeben ist. Die Hälften rundeten sich ziemlich rasch ab und hatten bald die in Fig. 1 dargestellte Form angenommen. Der ganze Vorgang dauerte nur wenige Minuten.

In einem anderen ähnlichen Präparate sah ich eine Zelle, deren Vacuole sich innerhalb der fast ohne Contraction erstarrten Hautschicht zu einer einzigen länglichen Blase isolirt hatte. Diese schnürte sich unter meinen Augen in ihrer Mitte ein; ich sah sie sich theilen und die beiden Hälften sich allmählich zu Kugeln contrahiren. In einer zweiten Zelle desselben Präparates, deren Vacuole gleichfalls zu einer länglichen Blase geworden war, sich aber nicht sichtlich mehr veränderte, konnte ich die Einschnürung und Theilung durch sehr vorsichtiges Erwärmen unter dem Mikroskope veranlassen und leicht mit dem Auge folgen.

Bisweilen wird der eingeschnürte Theil während der Abrundung der beiden Hälften zu einer dünnen Röhre oder einem feinen Strang ausgezogen. Ersteres habe ich auf Taf. IV in Fig. 4 an einer mit Osmiumsäure gerade während der Theilung der sich isolirenden Saftblasen fixirten Zelle abgebildet. Die beiden oberen Blasen sind noch durch eine dünne Röhre verbunden, welche denselben, durch die Osmiumsäure mit tiefschwarzer Farbe niedergeschlagenen Inhalt führt, wie die Vacuolen selbst 1).

Zu einem feinen Strange sah ich die Wand der Vacuolen in

1) Vergl. diesen Abschnitt § 4.

einer anderen Zelle der *Spirogyra* ausgezogen, in welcher die Contraction in derselben Weise vor sich gegangen war, wie dieses auf Taf. I in Fig. 9 abgebildet ist. Von der einen genau kugelförmigen Vacuole lief ein gerader dünner Faden durch die Mitte der Zelle bis in die Nähe der anderen Vacuole; hier war er aber vom todten Plasma derart bedeckt, dass ich ihm nicht bis zu seinem Ende folgen konnte. Etwa in seiner Mitte führte er eine kleine Vacuole, ungefähr von der Grösse der in Fig. 9 in der Mitte der Zelle abgebildeten.

Bei *Spirogyra nitida* beobachtete ich nicht gerade selten, dass eine vom sterbenden Plasma eingeschlossene Vacuole, wenn sie gezwungen wird, durch eine kleine Oeffnung des todten Schlauches hinauszutreten, dabei hintereinander eine Reihe kleiner Kugeln bildet. Vgl. z. B. Fig. 7 auf Taf. I und S. 328. Auch in den violetten Oberhautzellen der Blätter von *Tradescantia discolor* sah ich bisweilen die eingehüllten Saftblasen Ausstülpungen hervortreiben, von denen einige sich nachher zu Kugeln abrundeten und vom übrigen Theile abtrennten. Vergl. Fig. 6 auf Taf. III und die Beschreibung des betreffenden Versuches im nächsten Abschnitt, am Schluss des ersten Paragraphen.

Die jetzt nachgewiesene Fähigkeit, sich unter dem Einfluss künstlicher Eingriffe zu theilen, besitzen die Vacuolen auch im normalen Verbande mit den übrigen Organen der Protoplaste 1). Und dieselbe Eigenschaft trifft man auch in der Hautschicht und im Körnerplasma in gleicher Ausprägung an. Es sei mir erlaubt, um die Uebereinstimmung dieser drei Organe in diesem wichtigen Punkte nachzuweisen, hier aus der Literatur einige der hervorragendsten Beispiele anzuführen.

Zunächst wollen wir dazu unsere Fig. 8 auf Taf. II mit Hofmeister's Abbildung der normalen Plasmolyse derselben Wurzelhaare von *Hydrocharis Morsus Ranae* vergleichen 2). Hofmeister zeigte, wie sich beim letzteren Process das Protoplasma in zahlreiche Partien theilte, deren jede allmählich eine elliptische bis kugelige Form annahm. Um jeden Theil herum schloss sich die Hautschicht zu einer allseitig glatten Haut; von ihr umschlossen, erholte sich das Körnerplasma bald und nach wenigen Minuten rotirte in jedem Theile das Plasma in einem geschlossenem Kreislauf; es hatten sich also offenbar auch die abgetrennten

1) Vergl. auch die Erscheinungen der Aggregation bei *Drosera*, l. c.
2) Hofmeister, Die Pflanzenzelle, S. 52.

Theile des Körnerplasma in ähnlicher Weise geschlossen wie die der Hautschicht. Und dass dasselbe auch von der Vacuolenwand gilt, ist um so sicherer, als diese in unserem Versuche sogar nach dem Tode des übrigen Plasma unter ähnlichen Umständen dieselbe Spaltung und Abrundung der einzelnen Theile aufwies (Taf. II, Fig. 8).

Zu derselben Folgerung führen uns im Allgemeinen die Erscheinungen der normalen Plasmolyse. Bereits Pringsheim, der zuerst die plasmolytischen Reagentien in kritischer Weise und in grösserer Ausdehnung anwandte, hatte beobachtet und abgebildet, wie die Protoplaste dabei sich gar häufig zu zwei oder mehr Theilen auseinander ziehen [1]). „Nach und nach," schreibt er, „wird das Verbindungsstück zwischen den entstehenden Theilen immer dünner und dünner, bis es endlich durchreisst und die Theile isolirt werden. Die Hautschicht schliesst sich um jeden isolirten Theil ringsherum ab und bildet einen völlig glatten Ueberzug; jeder Theil erscheint jetzt gerade so scharf begrenzt, wie früher der ganze Inhalt." Pringsheim's Figuren 8 auf Taf. II und 18 auf Taf. III sind in dieser Hinsicht völlig überzeugend und seine Erfahrung ist seitdem wohl durch die meisten Anatomen bestätigt worden [2]).

Meine auf den vorigen Seiten gegebene Darstellung von dem Vorgange der Theilung der isolirten Zellsaftblasen stimmt in allen Einzelheiten mit dieser Beschreibung überein.

Aber auch ohne Mithülfe von plasmolytischen Reagentien kann man die Vereinigung der Ränder der drei verschiedenen Schichten des wandständigen Protoplasma nach deren Durchschneidung beobachten, wie aus folgenden Angaben hervorgeht.

Bereits im Jahre 1838 [3]) lehrte Dutrochet, dass man die von ihrer Rinde vorsichtig befreiten Internodien von *Chara fragilis* durch Ligaturen in zwei, vier oder mehr Abschnitte theilen kann, ohne dadurch die Rotation des Inhaltes auf die Dauer zu vernichten. Diese stellt sich nach kürzerer oder längerer Zeit wieder ein und zwar derart, dass nun in jedem Abschnitt ein getrennter Kreislauf beobachtet wird. Es geht aus diesen Versuchen hervor, dass sowohl die Hautschicht und das Körnerplasma als auch die Wand der Vacuole nach der künstlichen Einschnürung die betreffenden

1) Pringsheim, Bau und Bildung der Pflanzenzelle, 1854, S. 14.

2) Vergl. z. B. auch unsere Taf. II, Fig. 1A.

3) Dutrochet, Sur la circulation des fluides chez le *Chara fragilis*. Ann. sc. nat., 2. série, t 9, 1838.

Wunden völlig geheilt haben, dass ihre Wundränder vollständig mit einander verschmolzen sind. Dieselbe Folgerung ergiebt sich aus einigen Versuchen Pringsheim's mit *Nitella flexilis* 1). Dieser Forscher tödtete in den Internodien dieser Pflanze eine mittlere Stelle, indem er sie der Einwirkung der durch eine starke Linse concentrirten Sonnenstrahlen aussetzte und fand, dass die Zelle diese Beschädigung ohne sonstigen Schaden überlebte, dabei aber ihren Rotationsstrom zu zwei getrennten Kreisen umbildete.

Wenn die *Vaucherien*, *Mucorineen* und andere Coeloblasten Wunden, welche durch den Verlust ganzer Aststücke entstanden sind, heilen, so lehrt die directe Beobachtung, wie sich die Hautschicht und das Körnerplasma zusammenbiegen und vereinigen 2), während man dasselbe offenbar auch von der Wand der Vacuole annehmen muss. Wenn sich Schwärmsporen bei ihrem Austritt aus der Mutterzelle in zwei Hälften theilen, findet offenbar für die Hautschicht das Nämliche statt. Weitere Beispiele liefern die Pseudopodien der Plasmodien bei der Bildung von Anastomosen und bei ihrem Zerreissen, das Verschmelzen der Protoplaste bei der Entstehung der Milchsaftgefässe 3), die Heilung der Wand der Vacuolen, nachdem Stärkekörner durch sie hindurch in die Vacuolen gebracht worden sind u. s. w.

Fassen wir das Resultat dieser Auseinandersetzungen kurz zusammen, so können wir sagen, dass das Vermögen, sich unter verschiedenen Einflüssen zu theilen, und dabei die entstandenen Theile völlig abzurunden, den drei fraglichen Organen: Hautschicht, Körnerplasma und Vacuolenwandung in gleicher Ausprägung gemeinsam ist und dass es in letzterer auch nach dem Tode der beiden ersteren zur Thätigkeit gebracht werden kann. Es ist nicht unwichtig, zu bemerken, dass bei dieser Erscheinung stets nur gleichnamige Theile sich in der beschriebenen Weise vereinigen.

Die bisher beschriebenen Versuche über die Theilung der Vacuolen beziehen sich sämmtlich auf durch künstliche, mehr oder weniger dem Leben gefährliche Eingriffe verursachte Theilungen. Es sei mir erlaubt, daran einige Betrachtungen über die Wahr-

---

1) Pringsheim's Jahrbücher, Bd. XII, S. 324.

2) Vergl. Hanstein, Sitzungsb. Bonn, Nov. 1872 und Strasburger, Studien über das Protoplasma, l. c. S. 416.

3) Emil Schmidt, Ueber den Plasmakörper der gegliederten Milchröhren, Bot. Ztg. 1882, S. 435.

scheinlichkeit einer normalen Vermehrung der Vacuolen durch Theilung zu knüpfen.

In den Fäden der *Spirogyren* hat jede Zelle, jedenfalls kurze Zeit nach ihrer Entstehung durch Theilung, nur Eine grosse Vacuole. Wenn sich nun diese Zelle in der bekannten Weise theilt, so werden aus ihrer Vacuole zwei kleinere; die Wand der Vacuole wird dabei offenbar erst eingeschnürt und nachher an der engsten Stelle durchrissen. So weit unsere Kenntnisse bis jetzt reichen 1), lässt sich ein wesentlicher Unterschied zwischen diesem normalen Vorgange und der künstlichen nach dem Isoliren (Taf. IV, Fig. 1) nicht angeben. Und dasselbe dürfte von der Vermehrung der Tonoplaste bei der normalen Zelltheilung der höheren Pflanzen gelten.

Wie in der Einleitung zu diesem Abschnitte bereits erwähnt wurde, scheinen mir die Tonoplaste eine sehr grosse Analogie mit Schimper's Amyloplasten zu besitzen. Wie diese letzteren die Stärkekörner bilden, so muss ich annehmen, sammeln und bereiten auch die Tonoplaste die osmotischen Stoffe, welche dann durch Wasseranziehung aus der Umgebung den Zellsaft bilden. Und wie die Amyloplaste vor der Entstehung des Stärkekorns schon da sind, so müssen auch die Tonoplaste der Entstehung des Zellsaftes vorangehen. Freilich brauchen sie dann noch nicht die Form hohler Blasen zu haben, sondern können kleine, von jungen Amyloplasten vielleicht kaum zu unterscheidende, solide Körner darstellen (vgl. S. 341). Ob sie sich auch in diesem Zustande theilen, und ob sie ebenso wenig wie die Amyloplaste auf anderem Wege als durch Theilung hervorgebracht werden können, muss einstweilen, obgleich es sehr wahrscheinlich ist, der weiteren Forschung zur Entscheidung überlassen bleiben.

§ 2. Die Bedeutung der Vacuolenwandung für die Circulationsbewegung.

Seitdem Unger zuerst auf die Identität der Bewegungen der Amoeben und Plasmodien einerseits und des in Pflanzenzellen circulirenden Protoplasma andererseits aufmerksam machte, ist die wesentliche Uebereinstimmung beider Erscheinungen nicht nur niemals angezweifelt worden, sondern die neuen Thatsachen,

1) Vergl. z. B. die Abbildungen in Strasburger's Buch „Ueber Zellbildung und Zelltheilung" Taf. III.

welche seitdem unsere Kenntniss auf diesem Gebiete bereichert haben, haben immer weitere Stützen für seine Lehre herbeigeschafft. Aus dieser aber geht für unseren speciellen Zweck hervor, dass was bei jenen äusseren Formänderungen die Hautschicht leistet, bei den centralen Circulationsbewegungen von der Wand der Vacuole besorgt wird.

Die von den älteren Autoren als *Circulation* bezeichneten inneren Strömungen gehören bekanntlich zu drei verschiedenen, aber durch Uebergänge vielfach verbundenen Typen. Im ersteren Typus ist die Strömung nur wandständig und findet sie in Einer constanten unverzweigten Bahn und mit unveränderter Richtung statt; dies ist die sogenannte Rotation. Im zweiten Typus ist die Bahn mehr oder weniger verzweigt, die Richtung oft eine periodisch umsetzende, doch liegen alle Ströme noch, wie im ersteren Fall, im wandständigen Protoplasma. Diese Form der Bewegung ist zum Beispiel in erwachsenen Parenchymzellen allgemein verbreitet. Im dritten Typus finden sich gleichfalls im wandständigen Protoplasma verzweigte Bahnen mit wechselnder Stromesrichting, doch gehen von diesen aus in den Zellsaft Stränge und Fäden hinein, in denen jetzt gleichfalls die Körnchenströme beobachtet werden. In Haaren, jungen Gefässen, jungen Epidermiszellen u. s. w. ist dieser Fall bekanntlich aufzufinden.

Dem oben hervorgehobenen Unger'schen Principe gemäss, können wir diesen letzten Typus als den der inneren Pseudopodienbildung bezeichnen, und nur diesen haben wir im Folgenden zu berücksichtigen.

Unsere Aufgabe ist es nun, den Antheil der Vacuolenwandung und den des Körnerplasma an dieser inneren Pseudopodienbildung getrennt zur Darstellung zu bringen, um dadurch die Bedeutung jenes Organes für diese Bewegung beurtheilen zu können. Zu diesem Zweck wollen wir zunächst die Plasmodien betrachten und zusehen, aus welchen Erscheinungen sich bei ihnen der Antheil der Hautschicht an ihren Bewegungen folgern lässt. Dann aber werden wir untersuchen, ob dieselben Erscheinungen bei der inneren Pseudopodienbildung zurückkehren, und ob hier also dem Tonoplasten dieselbe Rolle zukommt als dort der Hautschicht.

Bei den Bewegungen der Plasmodien geht jener Antheil der Hautschicht an der Pseudopodienbildung am klarsten daraus hervor, dass die neuen Füsschen ganz von dieser Schicht gebildet werden, und als wellige hyaline Prominenzen entstehen, ohne dass sogar die Grenzlinie zwischen Hyaloplasma und Körnerplasma zu-

nächst von ihnen afficirt wird. Erst wenn sie grösser werden, dringt das Körnerplasma in sie hinein; sehr dünne Scheinfüsschen können sogar gänzlich hyalin bleiben 1). Wie diese Bewegungen der Hautschicht autonome sind, so sind es andererseits im Wesentlichen auch die des Körnerplasma, was zumal dort unzweifelhaft ist, wo in den grösseren Plasmodienkörpern die Strömchen sich hin und her bewegen, ohne dass sichtbare Veränderungen in der äusseren Form des Protoplasten auftreten. Dass beide Erscheinungen gelegentlich einander beeinflussen, darf von vornherein erwartet werden und ist auch für manche Fälle durch die Beobachtung sicher gestellt.

Ganz ähnlich verhält es sich nun bei der inneren Pseudopodienbildung, namentlich in dem bekannten Beispiele, den Haaren der *Tradescantia virginica*. Genau wie bei den Plasmodien sieht man auch hier die ersten Anfänge der Scheinfüsschen nur aus hyalinem Plasma gebildet, erst später dringt Körnerplasma in sie ein 2), und wenn sie ganz dünn sind, so bleiben sie auch hier oft zeitlebens hyalin. Zwar hat es oft den Anschein, als ob sie nur aus Körnerplasma beständen, da ihr äusserst dünner hyaliner Ueberzug der Beobachtung entgeht, doch lehrt eine genaue Untersuchung, dass dort, wo man einen dickeren Ueberzug erwarten darf, dieser auch thatsächlich vorhanden ist 3).

Somit ergiebt sich, dass in beiden Fällen die Bewegungen aus zwei Factoren zusammengesetzt sind, von denen jeder als die Leistungen eines besonderen Organes angesehen werden muss. Die Strömchen rühren von der autonomen Beweglichkeit des Körnerplasma her, die äussere resp. innere Formänderung der Protoplaste aber von der Thätigkeit einer hyalinen Schicht, welche das Körnerplasma bekleidet. Diese Schicht ist bei den Plasmodien die Hautschicht, in den Zellen mit Circulationsbewegung die Wand der Vacuolen. Beide Organe entwickeln, wie auch das Körnerplasma, in sich selbst die Kräfte zu ihren Bewegungen, alle drei bestehen sie somit aus lebendem Protoplasma 4).

Und dass diese Wand der Vacuole und die mittelst Salpeterlösungen isolirbaren Blasen eines und dasselbe Organ sind, wird

---

1) Vergl. z. B. de Bary, Die Mycetozoen, S. 44 und Hofmeister, Die Pflanzenzelle, S. 23.

2) Hofmeister, Die Pflanzenzelle, S. 45.

3) Hanstein, Das Protoplasma, 1880, S. 157.

4) Auch hier liefern die Erscheinungen der Aggregation bei *Drosera* eine weitere Bestätigung. Vergl. l. c.

wohl kaum Zweifeln unterworfen sein. Allerdings kann man an den isolirten Organen das Ausstülpen von inneren Scheinfüsschen nicht beobachten; ihre Trennung vom Körnerplasma und der krankhafte Zustand, in welchem sie selbstverständlich verkehren, lässt dieses von vornherein als unmöglich erscheinen. Selbst bei der normalen Plasmolyse ziehen die Zellen von *Tradescantia virginica* zunächst ihre Centralströmchen ein, um erst nach einiger Ruhe wieder neue in den Zellsaft auszusenden 1) Diese Ruhe trifft die isolirten Wände der Vacuolen aber bereits in beträchtlich geschwächtem Zustande. Doch die Thatsache, dass beide die Grenze zwischen Körnerplasma und Zellsaft einnehmen und dass beide äusserst dünne hyaline Schichten sind, deren Dicke im lebenden Zustande meist nicht zu erkennen ist, spricht deutlich für ihre Identität. Zum Ueberfluss erinnere ich daran, dass ich auch in den Haaren der *Tradescantia virginica*, diesem am meisten erforschten Beispiele jener Bewegungen, die Anwesenheit der Vacuolenwandung mittelst meiner Methode nachgewiesen habe 2). Auch geht aus den Beobachtungen des vorhergehenden Parapraphen klar hervor, dass die Zellsaftblasen selbst nach dem Isoliren, wenigstens in den ersten Momenten nach dem Tode des übrigen Plasma, dieselbe Dehnbarkeit und Elasticität, dasselbe Vermögen des Zusammenfliessens der Theile bei einfacher Berührung, dieselbe Fähigkeit, zu dünnen Fäden ausgezogen zu werden, mit einem Worte, dieselbe Plasticität besitzen, welche uns in den autonomen Bewegungen der normalen Vacuolenwandung stets in so hohem Grade auffällt.

§ 3. Vergleichung der Vacuolenwandung mit der Hautschicht im erstarrten Zustande.

Nicht nur während des Lebens, sondern auch nach dem Tode lassen sich für die Vacuolenwandung und die Hautschicht mehrfache Punkte nachweisen, in denen sie gleiche Eigenschaften besitzen. Indem wir ihre Uebereinstimmung auch in dieser Hinsicht verfolgen, beschränken wir uns nur auf diejenigen Fälle, in denen die betreffenden Theile ohne merkliches Zusammenschrumpfen erstarrt sind, die Erscheinungen, welche das Zusammenschrumpfen begleiten, bewahren wir für einen späteren Paragraphen auf.

---

1) Hofmeister, Die Pflanzenzelle, S. 51.
2) Vergl. S. 337 und Taf. II, Fig. 4.

Für die Beschreibung der Zellsaftblasen im völlig erstarrten Zustand wählen wir als Object wiederum die *Spirogyra nitida.* Ich untersuchte ihre, in zehnprocentiger Salpeterlösung isolirten Vacuolenwände vorwiegend nach einem sechstägigen Aufenthalte in dieser Flüssigkeit, zum Theil aber auch an solchen Zellen, in denen das Erstarren der isolirten Blasen durch vorsichtige Erwärmung oder durch Behandlung mit gewissen Giften beschleunigt worden war. Die Vacuolen erstarren unter diesen Umständen in der Regel ohne zu platzen, und wir schliessen die Fälle, wo letzteres eintrat, von unserer Beschreibung zunächst vollständig aus; sie werden im § 5 ihre Besprechung finden.

Auf Taf. III habe ich in Fig. 4 eine Zelle von *Spirogyra nitida* im erstarrten Zustand abgebildet; sie hatte sechs Tage in zehnprocentiger Salpeterlösung zugebracht. Die Saftblase war gleich anfangs zur Hälfte von den sterbenden, äusseren Theilen des Plasma entblösst worden, zum Theile war sie auch jetzt noch von diesen umgeben. Als ich nun Eosin zusetzte, diffundirte dieses durch die Vacuolenwandung hindurch und färbte deren Inhalt roth. Die Blase selbst war hyalin und von glatter und wie gespannter Oberfläche, aber sie war völlig steif und spröde, denn als ich vorsichtig auf das Deckglas drückte, zerbrach sie bei *a* und bekam einen Riss, ohne dabei zusammenzuschrumpfen oder auch nur den Riss zu erweitern, wie sie im elastisch gespannten Zustande gethan haben würde. Die Figur stellt die Saftblase im zerdrückten Zustand dar.

Auch in den übrigen Zellen dieses Versuches waren die Zellsaftblasen völlig steif und spröde und liessen sie den Farbstoff in die Vacuole ohne merklichen Widerstand auch dann eindringen, wenn ihre Oberfläche noch keine Risse aufwies. In mehreren Zellen gelang es mir, die Blasen zu zerdrücken; sie verhielten sich dabei, wie die der oben besprochenen und abgebildeten Zelle.

Andere Fäden aus demselben Materiale benutzte ich, um mich von dem Mangel jeglicher Spannung in den isolirten Wänden der Vacuolen zu überzeugen. Ein einfaches Mittel dazu ist das Aussüssen der Salzlösung mit Wasser. Die frischen Blasen schwellen dabei anfangs rasch an, sie werden stark ausgedehnt häufig aber platzen sie und schrumpfen dann zusammen. Die bereits erstarrten erleiden beim Auswaschen des Salzes dagegen keine merkliche Veränderung, sie behalten fortwährend dieselbe Grösse bei. Dass sie sich weder ausdehnen noch contrahiren, beweist, dass sie starr und ohne Spannung sind.

Tödtet man die frischen, isolirten Saftblasen ohne Verdünnung der Salpeterlösung durch ein schwaches Gift, z. B. eine schwache Jodlösung, so sieht man sie häufig platzen und zusammenschrumpfen (*Agave*, *Spirogyra u. a.*). Lässt man in derselben Weise das Gift auf die Vacuolenwände nach sechstägigem Aufenthalt in der Salzlösung einwirken, so übt dieses auf sie keine solche Wirkung mehr aus.

Die erstarrten Saftblasen der *Spirogyra nitida* zeigten sich für sämmtliche Reagentien, welche ich darauf geprüft habe, sowie für die gelösten Stoffe des Zellsaftes permeabel. Namentlich gilt dieses von Salzen, Farbstoffen, und von dem im Zellsaft enthaltenen Gerbstoff. Denn dieser pflegt auch aus den Vacuolen mit anscheinend nicht zerrissener Wand nach sechstägigem Aufenthalt in der Salpeterlösung verschwunden zu sein, wenigstens konnte ich ihn mit den gebräuchlichen Reagentien nicht mehr nachweisen, obgleich solches in den frisch isolirten Vacuolen ein Leichtes ist. Doch kommen wir auf diese Verhältnisse später ausführlich zurück.

Die Saftblasen von *Spirogyra nitida* zeigen ferner im erstarrten Zustand deutlich eine doppelte Contour (vgl. Taf. III, Fig. 4 u. S. 352). An den lebendigen Objecten gelang es mir bis jetzt nicht, diese nachzuweisen, ihr Umriss bildete eine feine helle Linie, ihre Oberfläche ist glänzend und stark lichtbrechend. Zumal an den Rändern der Risse ist die doppelte Contour im ersteren Falle äusserst deutlich, doch auch an nicht zerbrochenen erstarrten Tonoplasten sah ich sie sehr allgemein, sowohl nach längerem Liegen der Zellen in der Salzlösung als auch nach schwacher Erwärmung in dieser. Zusatz von etwas Eosin erhöhte die Deutlichkeit. Auch bei Behandlung mit doppeltchromsaurem Kali, statt mit Salpeter und Eosin, war diese Eigenschaft schön zu beobachten.

Die Vacuolenwände von *Spirogyra* sind ferner im völlig erstarrten Zustand hyalin und durchscheinend. Ohne Hülfe von Farbstoffen ist es dadurch sogar oft sehr schwer zu entscheiden, ob eine Vacuole noch lebendig oder bereits völlig steif geworden ist. Doch fehlt den todten Organen jener den lebenden eigenthümliche Glanz, jenes starke Lichtbrechungsvermögen. Sind die todten Blasen anscheinend trübe und körnig, wie auf Taf. I in Fig. 11, so pflegt dieses von Körnerplasma herzurühren, welches ihnen äusserlich noch anhaftet, wie dieses auf Taf. I in Fig. 6 bei t und Taf. IV in Fig. 8 A abgebildet ist.

Dass die Substanz unserer Saftblasen hyalin und anscheinend structurlos zu sein pfegt, ist in Uebereinstimmung mit den Resultaten derjenigen Forscher, welche die Wand der Vacuole in ihrem normalen Verbande mit den übrigen Organen des Protoplasten untersuchten. So fand in der letzten Zeit z. B. Schmitz sogar nach Behandlung mit Pikrinsäure die dünnsten derjenigen Fäden, welche in Zellen mit centralen Plasmaströmchen den Zellsaft durchsetzen, und welche offenbar wenigstens grösstentheils aus der Vacuolenwandung gebildet sind, durchaus homogen; nur hier und da führten sie jene kleinen dunkleren Körnchen, welche schon seit langer Zeit aus der Körnchenbewegung des Protoplasma bekannt sind [1]. Auch die Hautschicht wird von den meisten Mikroskopikern als eine hyaline, im Leben structurlose Lage beschrieben, und auch in diesem Punkte finden wir also Uebereinstimmung in den Eigenschaften jener beiden das Körnerplasma und die übrigen Organe einschliessenden Grenzschichten.

Zum Schlusse wollen wir noch das Verhalten der erstarrten Blasen gegenüber Farbstoffen behandeln. Von solchen werden die Vacuolenwandungen unserer *Spirogyra* im Allgemeinen nur schwach tingirt. Eosin, welches in der salpeterhaltigen Flüssigkeit das todte Plasma viel intensiver färbt als in wässeriger Lösung, wird auch in ersterer kaum in merklicher Menge von den starren Vacuolenwandungen aufgenommen. Kaum gelingt es, sie gefärbt zu sehen, und nur, dass sie in der Eosin-rothen Umgebung schärfer hervortreten als ohne diesen Farbstoff, deutet auf eine Aufnahme dieses Körpers hin. Auch Jodlösung, welche das Körnerplasma, z. B. wo es stellenweise den Vacuolen anhängt, tief braun färbte, ertheilte den Saftblasen, wo sie von anhängenden Theilen völlig frei waren, kaum einen merklich gelblichen Ton. Auch mit anderen Farbstoffen gelang es mir nicht, bessere Resultate zu erhalten.

Auch in dieser Eigenschaft sehe ich eine merkwürdige Uebereinstimmung mit der Hautschicht, welche häufig, wo sie getrennt vom Körnerplasma zur Beobachtung gelangte, als indifferent gegen die für dieses üblichen Färbungsmittel beschrieben wird. So sagt z. B. Tangl, dass die Hautschicht in den Zellen der Erbse, sowie in denen des Endosperms von *Strychnos*, *Phoenix* u. a. nicht durch Karmin gefärbt werde [2]. So beschreibt Dippel in seiner

---

1) F. Schmitz, Untersuchungen über die Struktur des Protoplasma und der Zellkerne. Sitzungsber. Bonn 13. Juli 1880, Sep. S. 4.

2) E. Tangl in Pringsheim's Jahrbüchern Bd. XII, S. 180 und Sitzungber. der k. Akad. d. Wiss., Wien Juni 1878, S. 39.

ausgezeichneten Arbeit über das Entstehen der Spiralleisten in der Zellhaut [1]), wie die Bänder hyalinen Plasmas, welche als Verdickungen der Hautschicht an jenen Stellen auftreten, wo nachher die Spiralleisten abgesetzt werden sollen, und an denen die Strömchen des Körnerplasma entlang gehen, sich mit Jod gar nicht färben, während das Körnerplasma hochgelb wird. Auch die Cilien der *Flagellaten* besitzen nach Künstler und Bütschli, im Gegensatz zu dem gewöhnlichen Plasma, eine sehr geringe Tingirbarkeit [2]).

Fassen wir die Ergebnisse unserer Beobachtungen kurz zusammen, so können wir sagen, dass zwischen dem lebenden Zustand der frisch isolirten Vacuolenwände und ihren Eigenschaften nach dem völligen Erstarren, im Wesentlichen derselbe Unterschied besteht, wie zwischen der lebenden und der todten Hautschicht. Im Leben stimmen die Wand der Vacuolen und die Hautschicht in ihrem Verhalten gegenüber plasmolytischen Reagentien bis in Einzelheiten genau überein, im Tode sind beide starr, im hohem Grade für gelöste Stoffe permeabel, hyalin und oft nur schwach tingirbar.

Die einzelnen namhaft gemachten Differenzpunkte zwischen der lebenden und der todten Vacuolenwandung werden wir in § 6 dazu benutzen, um das allmählige Fortschreiten des Erstarrens beim langsamen Tode zu studiren.

§ 4. Das Fixiren der isolirten Vacuolen.

Genau wie die ganzen Protoplaste, so können auch die isolirten Vacuolen durch die zu diesem Zwecke üblichen Mittel fixirt werden. Und zwar gelingt es, sie in den verschiedensten Stadien ihrer Zusammenziehung und Ablösung von dem übrigen Plasma erstarren zu lassen. Manche Einzelheiten des Vorganges können daher leichter an fixirten Präparaten als während des Processes selbst an den noch lebenden Objekten studirt werden, und auch für die Demonstration eignen sich die fixirten Vacuolenwände in vortrefflicher Weise.

---

1) L. Dippel, Ueber die wandständigen Protoplasma-Strömchen in den Abh. d. Naturf.-Gesellsch. zu Halle Bd. X, 1864, S. 58.

2) Bütschli in Bronn's Klassen und Ordnungen des Thierreichs, Bd. I, 2. Aufl., Heft 22, 23, 1883 S. 674. Vergleiche auch die Beobachtungen von Schmitz, l. c., über die sogenannte Netzstruktur des Protoplasma und das Verhalten der Fasern und Maschen gegen Farbstoffe.

Selbstverständlich sind nicht alle Fixirungsmittel in gleichem Grade für diesen speciellen Fall geeignet. Die schönsten Resultate gab mir Osmiumsäure, dagegen sah ich die Saftblasen unter der Einwirkung concentrirter Pikrinsäure mehrfach platzen und zusammenschrumpfen. Als Objekt benutzte ich die in zehnprocentiger Salpeterlösung isolirten Vacuolen der *Spirogyra nitida*, und ich setzte die Reagentien stets in einer 10 pCt. Salpeter enthaltenden Lösung zu, damit die Vacuolen nicht durch Verdünnen des Salzes einen Schaden nehmen könnten. Die meisten der von mir benutzten Reagentien geben mit dem Gerbstoffe des Zellinhaltes einen starken Niederschlag, wodurch häufig die Vacuolen sich noch schärfer und schöner aus ihrer Umgebung hervorheben.

Ich fange mit der Beschreibung der Osmiumsäure-Präparate an. Vergl. Taf. IV, Fig. 4. Ich benutzte eine gerade vorhandene ursprünglich einprocentige Lösung, welche aber durch mehrjähriges Aufbewahren merklich an Gehalt verloren hatte, mischte diese in gleichen Theilen mit einer Salpeterlösung von 20 pCt. und setzte diese Mischung auf vorher längere oder kürzere Zeit in der zehnprocentigen Salpeterlösung aufbewahrte *Spirogyren*. Augenblicklich färbte sich der Zellsaft tiefschwarz, wohl durch die Einwirkung der Osmiumsäure auf den Gerbstoff [1]; die Masse erschien als völlig compact, zeigte sich aber beim nachherigen Zerdrücken der Vacuolen als aus einem grobkörnigen Niederschlag gebildet. Um die schwarzen Kugeln herum war bisweilen die Wand der Vacuole als eine helle Grenzlinie sichtbar. Hautschicht und Körnerplasma färbten sich nicht, auch nicht in normal plasmolysirten Zellen; die Chlorophyllbänder behielten ihre grüne Farbe bei. In meinen Präparaten beobachtete ich die Zellen in den verschiedensten der auf Taf. I und IV abgebildeten Zustände; stets waren die Vacuolen tiefschwarz. Als Beispiel habe ich auf Taf. IV in Fig. 4 eine Zelle dargestellt. Das äussere Protoplasma war unter geringer Contraction gestorben, die Vacuole hatte sich in vier Kugeln getheilt, von denen die zwei oberen noch nicht völlig getrennt waren. Sie waren durch eine, noch mit Zellsaft erfüllte Röhre verbunden, was man daran sieht, dass auch der Inhalt der Röhre schwarz wurde. Die Vacuolen waren genau kugelig, mit glatter Oberfläche, also fixirt ohne zu collabiren. Sehr hübsche Bilder geben auch die zu ähnlichen For-

1) Künstliche Gerbstofflösung gab mit Osmiumsäure gleichfalls einen schwarzen Niederschlag.

men wie in Fig. 7 A u. B auf Taf. IV normal plasmolysirten Protoplaste; die beiden nahezu kugeligen Vacuolen sind schwarz, aber von hellem grünlich erscheinenden Plasma umgeben, und durch einen gleichfalls hellen und grünlichen Strang verbunden [1]). Fast den ganzen Formenreichthum der plasmolytischen Erscheinungen der *Spirogyra*, wie sie im ersten Abschnitt § 1 u. 2 beschrieben wurde, kann man oft an einem solchen Präparate demonstriren.

Mit Osmiumsäure habe ich auch in den Zellen des Fruchtfleisches von *Symphoricarpus racemosa*, die innerhalb des todten, nicht oder fast nicht contrahirten Plasma's isolirten Vacuolen fixirt. Einige behielten dabei Kugelform, andere bekamen eine unregelmässige Oberfläche. Da sie den eigenthümlichen Glanz verlieren, der sie im lebenden Zustande so leicht kenntlich macht, sind sie nach dem Fixiren häufig schwierig aufzufinden.

Mehrere Salze schwerer Metalle gaben für die Vacuolen von *Spirogyra nitida* schöne Fixirungsmittel ab. So Quecksilberchlorid, Silbernitrat und häufig auch schwefelsaures Kupfer. Eine Salpeterlösung, welche nur 0,0001 Aeq. $HgCl_2$ enthielt, reichte hin, um die Saftblasen dieser Pflanze momentan erstarren zu lassen, und da ihr Inhalt eine bräunliche Farbe anzunehmen pflegt, erhielt ich ähnliche Bilder, wie in den Osmiumpräparaten, wenn auch nicht so schön. Auch nicht plasmolysirte sowie normal plasmolysirte Zellen konnte ich mit Quecksilberchlorid in schöner Weise fixiren, im ersteren Fall erhielten sich die vom Kern ausstrahlenden Plasmafäden in ausgezeichneter Weise. Auch in den Zellen anderer Pflanzen kann man Quecksilberchlorid, mit oder ohne Plasmolyse, oder nach dem Isoliren der Vacuolen mit Erfolg zur Fixirung anwenden, doch ist je nach den Geweben oft eine höhere Concentration erforderlich. Ueber die Wirkung sehr geringer Mengen von Quecksilberchlorid auf die Vacuolen der *Tradescantia* vergleiche man Abschnitt III, § 3 u. 4; bei grösseren Gaben werden auch diese fixirt.

Kupferchlorid, schwefelsaures Kupfer, verschiedene Eisensalze (Taf. IV, Fig. 5) und Silbernitrat lassen die Wände der Vacuolen der *Spirogyra* häufig, wenn auch nicht immer, ohne Collabiren erstarren. Auf die Wirkung dieser Salze komme ich aber in Abschnitt III § 5 bei der Behandlung der Gerbstoffreaction ausführlich zurück.

---

1) Es zeigt dieses, dass das Protoplasma selbst keinen Gerbstoff enthält, dieser ist auf den Zellsaft beschränkt. Dasselbe zeigen Silber- und Eisenpräparate; vergl. Abschnitt III, § 5.

Auch Jodium leistete mir häufig als Fixirungsmittel gute Dienste. In schwachen Gaben lässt es die Zellsaftblasen der *Tradescantia*, wie das Quecksilberchlorid, langsam sterben und veranlasst es, je nach Umständen, die Erscheinungen der nachträglichen Ausdehnung (III, § 3) oder der stetig fortschreitenden Contraction (III, § 4); in stärkeren Gaben lässt es diese Organe aber momentan erstarren. Wenn man aus alkoholischer Jodtinctur durch Wasser Jodium in fein krystallinischer Form niederschlägt und dieses auf dem Filtrum auswäscht, so löst es sich in der zehnprocentigen Salpeterlösung leicht mit deutlich hellbrauner Farbe auf. In dieser Lösung erstarrten die vorher isolirten Vacuolen der *Spirogyra nitida*, wenn auch nicht ausnahmslos, so doch zahlreich, ohne zu platzen und zusammenzuschrumpfen. Auch ohne Plasmolyse kann man die Zellen der *Spirogyra* mit Jodium fixiren, und solche Präparate sind sehr geeignet, zu zeigen, wie spröde die Protoplaste in diesem Zustand sind. Denn sie sind ohne jede Contraction erhärtet; durch Zerdrücken oder Zerschneiden der Zellen, ja zuweilen beim einfachen Knicken der Fäden werden sie aber zusammengefaltet und dabei von der Zellhaut isolirt. Ein ähnliches Zusammenfalten nach dem Fixiren mit Jodium bewirkt starkes Glycerin, während absoluter Alkohol solche Zellen nicht sichtlich verändert.

An den Zellen des Fruchtfleisches von *Symphoricarpus racemosa* gelang es mir gleichfalls mit Jodium die isolirten Vacuolen zu fixiren.

Aus den mitgetheilten Beobachtungen geht hervor:

1. dass die isolirten Wände der Vacuolen im Allgemeinen durch dieselben Reagentien und unter denselben Erscheinungen fixirt werden können, wie die übrigen Organe der Protoplaste;
2. dass dieselben Mittel, welche sie in gewissen Concentrationen plötzlich erstarren lassen, in schwächeren Gaben nicht selten in ihnen die Erscheinungen des langsamen Sterbens hervorrufen.

§ 5. Das Platzen und die nachherige Contraction der Vacuolenwandung.

Schon mehrfach habe ich Versuche beschrieben, welche damit endeten, dass die isolirten und plasmolytisch contrahirten Vacuolen platzten, und dass ihre Wand dabei zusammenschrumpfte.

Ich möchte jetzt diese Erscheinung, welche uns im nächsten Paragraphen ein Mittel sein wird, um das allmählige Erstarren der isolirten Zellsaftblasen zu studiren, etwas eingehender beschreiben. Und zwar nur, wie sie sich an frisch isolirten Vacuolen darbietet, denn die Abweichungen, welche bereits längere Zeit isolirte Saftblasen dabei aufweisen, gehören sämmtlich in das Gebiet des langsamen Sterbens, also in den nächsten Paragraphen.

Der einfachste Fall ist wohl der, in welchem das Platzen durch Verdünnung des plasmolytischen Reagens hervorgerufen wird. Je nachdem dieses Aussüssen rascher oder langsamer von Statten geht, ist die Erscheinung eine andere. Im letzteren Fall sah ich häufig die völlig isolirten Vacuolen unter meinen Augen anschwellen, platzen und zusammenschrumpfen, im ersteren platzten sie so bald, dass eine Zunahme des Volumens nicht mit Sicherheit zu erkennen war. Das Zusammenfallen geht bisweilen rasch, bisweilen aber langsamer vor sich, häufig so, dass man es in seinen einzelnen Stadien verfolgen kann. Auf Taf. IV habe ich in Fig. 8 A eine Zelle mit vier zum Theil ganz, zum Theil zur Hälfte aus dem todten Plasma herausgetretenen Vacuolen abgebildet. Als ich die Salpeterlösung dieses Präparates mit Wasser aussüsste, platzten sie und contrahirten sich, wobei die beiden kleineren sich in die todten Plasmareste zurückzogen, während die beiden anderen als faltige Membranen, ohne Spannung und ohne Glanz sichtbar blieben (Fig. 8 B).

Das Zusammenfallen der geplatzten Blasen beruht offenbar auf der Aufhebung jener elastischen Spannung, der sie im frischen Zustande ihre glatte Oberfläche und ihre die Kugelform anstrebende Gestalt verdankten. Nicht anders verhält sich eine todte Blase, welche durch ihren Inhalt stark gedehnt war und nun an einer Stelle plötzlich zerrissen wird. Und die Spannung der plasmolysirten Vacuolen ist selbst offenbar nur ein kleiner Theil derjenigen Spannung, welche sie in ihrer normalen, soviel stärker ausgedehnten Lage besassen. Ob die Substanz der Vacuolenwände, nach dem Platzen, eine etwa auf Wasserverlust beruhende Volumverringerung erfährt, dürfte schwer zu entscheiden sein, da die elastische Contraction zur Erklärung der beobachteten Erscheinungen hinreicht.

Ein anderes Mittel, um die isolirten Vacuolen zum Platzen zu bringen, ist der Zusatz einer geringen Menge einer freien Säure ohne gleichzeitige Verdünnung der plasmolysirenden Salzlösung. Wie im nächsten Abschnitt ausführlich erörtert werden wird, hat

ein solcher Zusatz ein Anschwellen der Vacuolen zur Folge, das gewöhnlich von einem Platzen gefolgt wird. Dieses Platzen aber war in den dort zu beschreibenden Versuchen eine sehr gefürchtete Erscheinung, weil es selbstverständlich immer die Fortsetzung der betreffenden Beobachtung unmöglich machte und eine Reihe der bei jenen Versuchen befolgten Vorschriften hatte hauptsächlich nur den Zweck, dieses ungewünschte Ende der Beobachtungen möglichst lange zu verschieben.

Unterscheidet sich der flüssige Zelleninhalt in einer sichtbaren Weise von der umgebenden Lösung, so lässt sich direct beobachten, wie er durch den entstandenen Riss hinausgepresst wird. So sieht man z. B. den farbigen Saft der Epidermiszellen der *Tradescantia discolor* aus den contrahirten Saftblasen beim Platzen als eine kleine Wolke aus dem Riss heraustreten und sich in der Salzlösung verbreiten, um dort bald unsichtbar zu werden. In den Zellen der *Spirogyra nitida* kann man in dem Inhalt der in üblicher Weise isolirten Vacuolen durch Zusatz gewisser Säuren einen körnigen Niederschlag entstehen lassen, ohne dass gleichzeitig ihre Wand eine merkliche Veränderung erleidet. Bald darauf wird, wie im nächsten Abschnitt des Näheren beschrieben werden wird, durch die Wirkung der Säure die Vacuole ausgedehnt, und früher oder später folgt darauf das Platzen ihrer Wand. Aus dem entstandenen Risse sieht man nun den körnigen Inhalt hervortreten, während die Blase sich contrahirt; ist der Riss, wie häufig der Fall, selbst nicht sichtbar, so kann man sich über seine Lage mittelst dieser Erscheinung orientiren.

Sehr geeignet zu diesem Versuche ist Pikrinsäure, von der man einfach kleine Kryställchen auf dem Objectglas in die Salpeterlösung aufzulösen braucht, um die Erscheinung wenige Minuten nachher beobachten zu können. Sie färbt den Saft der Vacuolen gelb, noch ehe sie darin den erwähnten Niederschlag erzeugt. Letzterer löste sich, nachdem er aus der geplatzten Blase hervorgetreten war, in der umgebenden Flüssigkeit wieder auf. Auch Oxalsäure und Osmiumsäure erzeugten in den fraglichen Vacuolen einen Niederschlag, den ich gleichfalls deutlich beim Platzen hinaustreten sah.

Das Zusammenschrumpfen sah ich in den isolirten Saftblasen der *Spirogyra nitida* auch, als ich das Platzen durch Salzsäure oder Essigsäure ohne gleichzeitige Verdünnung der Salpeterlösung [1]) bewirkte. Es geschah in einigen Vacuolen nahezu plötz-

1) Um dieses zu erreichen, mische ich eine Salpeterlösung von 20 pCt.

lich, in anderen ging es langsam oder stossweise vor sich und zwar bei Behandlung mit derselben Säure, ja sogar in demselben Präparate.

Das Platzen der plasmolysirten Vacuolen kann, ausser durch Säuren, auch noch durch andere Ursachen herbeigeführt werden. So z. B. gelang es mir häufig, durch Druck auf das Deckglas die Zelle der *Spirogyra* und ihre isolirten Zellsaftblasen derart abzuplatten, dass letztere endlich platzten. Doch auch ohne vorherige Ausdehnung und ohne irgend welche bekannte Ursache für eine solche, z. B. nach mehrtägigem Aufenthalt in der zehnprocentigen Salpeterlösung (in einem Cylinderglase) findet man häufig zahlreiche Blasen mehr oder weniger zusammengeschrumpft und also geplatzt. So z. B. in der auf Taf. I in Fig. 11 abgebildeten Zelle. Es ist dieses aber wahrscheinlich bereits eine Folge des langsamen Erstarrens und lässt sich aus den Angaben des nächsten Paragraphen ohne Mühe erklären.

Die beschriebenen Erscheinungen stellen eine neue Uebereinstimmung zwischen der Wand der Vacuole und dem ganzen wandständigen Plasmaschlauch dar. Denn auch dieser platzt häufig, wenn man ihn, im plasmolysirten Zustande, den oben besprochenen Einflüssen aussetzt. Das Auswaschen des Reagens stellt eine allbekannte Ursache dieses Vorganges dar, doch kommen wir hierauf im nächsten Paragraphen zurück. Beim Erwärmen unter dem Mikroskop beobachtet man die Erscheinung gleichfalls und ich möchte hier ein Beispiel dieses Falles zur Erläuterung des ausgesprochenen Satzes einschalten (Taf. III, Fig. 2).

Schnitte aus dem Parenchym der rothen Rübe, welche mehrere Stunden vorher in Chlornatriumlösung von 9 pCt. aufbewahrt waren und deren Protoplaste sich sehr stark, grösstentheils zu Kugeln, contrahirt hatten, wurden in derselben Flüssigkeit unter Deckglas gebracht und dieses ringsherum mittelst eines Lackes an das Objectglas angeschlossen, um einer Verdunstung des Tropfens während des Versuches vorzubeugen. Dann wurde eine bestimmte Zelle des Präparates ausgewählt und darauf das Ganze im Sachs'schen warmen Kasten langsam erwärmt. In einer Stunde stieg die Temperatur des Thermometers in der unmittelbaren Nähe des Objectes allmählig auf 60° C., dann in zwanzig Minuten

---

mit einem gleichen Volumen Säure, z. B. von 0,2 Aeq., und ersetze unter dem Deckglas die ursprüngliche zehnprocentige Salpeterlösung durch diese Mischung.

von 60 auf 63° C. Die betreffende Zelle ist auf Taf. III in Fig. 2 abgebildete. Vor dem Erwärmen klebte der Protoplast noch an einer breiten Stelle der Wand an, sie löste sich von dieser ab, bevor die Temperatur noch 45° C. erreicht hatte, und bildete von da an eine nahezu vollkommene Kugel. Diese hatte bei 62° C. noch eine glatte Oberfläche, bald darauf bildeten sich hyaline farblose Ausstülpungen, welche in Fig. 2 A im optischen Durchschnitt angegeben sind, und welche fortwährend ihre Form und Stellung änderten, sie wurden flacher und weniger zahlreich, dann wieder steiler und zahlreicher. Bald verschwanden sie, um an einer anderen Stelle wieder hervorzutreten. Sie waren anscheinend nur aus der Hautschicht und dem Körnerplasma gebildet. Bei 63° C. bildete sich statt dieser bei *a* eine dünnwandige, etwas grössere Ausstülpung, welche mit rothem Zellsaft gefüllt war. Fast augenblicklich platzte diese in ihrem Gipfel und der Schlauch stiess den rothen Inhalt aus, der als eine rothe Wolke sich in der umgebenden Salzlösung verbreitete und bald verschwand. Der Schlauch contrahirte sich langsam und stossweise unter meinen Augen und erreichte nach etwa 10—15 Sekunden die durch die punktirte Linie angegebene Form, welche sie dann beibehielt. Ich habe diesen Versuch theils in der genannten Lösung, theils in Rohrzuckerlösung von 40 pCt. zahlreiche Male wiederholt, stets platzten die Schläuche bei etwa 60° C. unter ähnlichen, wenn auch nicht immer so stark ausgeprägten Erscheinungen wie in dem beschriebenen Versuch.

Die zu Kugeln plasmolysirten noch völlig lebendigen Protoplaste platzen also im Wesentlichen unter den nämlichen Erscheinungen wie die in ähnlicher Weise contrahirten isolirten Vacuolen; auch in der Art des darauf folgenden Zusammenschrumpfens ist kein Unterschied zwischen beiden ersichtlich.

Der zuletzt beschriebene Versuch giebt aber die Veranlassung zu einer weiteren Frage, ob nämlich auch die isolirten Vacuolen durch Erwärmung bis über die Temperaturgrenze des Lebens zum Platzen gebracht werden können, und diese Frage leitet wiederum zu der folgenden, ob diese Grenze für ihre Wände bei denselben Graden der Thermometerskala liegt, wie für die übrigen Organe, oder ob sie vielleicht weit davon verschieden ist.

Obgleich ich der letzteren Frage kein eingehendes Studium gewidmet habe, so möchte ich ein paar, freilich zu anderen Zwecken angestellte Versuche, einschalten, welche wenigstens das lehren, dass die fraglichen Grenzen für die isolirten Saftblasen nicht we-

sentlich von den bekannten Werthen der oberen Temperaturgrenze des Lebens abweichen.

Eine dieser Wahrnehmungen machte ich an einer Zelle von *Spirogyra nitida*, welche in einer mit Eosin schwach gefärbten zehnprocentigen Salpeterlösung normal plasmolysirt war und welche ich unter Deckglas unter dem Mikroskop sehr langsam erwärmte 1). Nach einiger Zeit fing das äussere Protoplasma an, sich zu contrahiren, es stiess dabei seitlich eine grosse Vacuole aus; dieser folgten durch dieselbe Oeffnung noch zwei kleinere, indem die Hautschicht sich immer weiter zusammenzog, und sich mit Eosin färbte. Ich hörte jetzt mit der Erwärmung auf; das Protoplasma war roth, das Chlorophyll braun, die drei Blasen völlig farblos und mit gespannter, glatter Oberfläche. Die Stärke war noch nicht aufgequollen. Als ich nun langsam weiter erwärmte, quoll erst die Stärke auf, bald darauf aber starben die Zellsaftblasen, und ihr Inhalt nahm den Farbstoff auf. Häufig sah ich beim Ueberschreiten dieser Temperatur diese Blasen unter dem Mikroskop plötzlich platzen und zu einer unscheinbaren Masse zusammenschrumpfen; bei langsamerem Erwärmen erstarrten sie ohne Contraction.

In anderen Versuchen erwärmte ich Zellen, deren lebendige Vacuolen noch mehr oder weniger von den gestorbenen Chlorophyllbändern umgeben waren, in der rothen Salpeterlösung so vorsichtig wie möglich. Häufig gelang es mir, das Aufquellen der Stärke zu veranlassen, ohne dass ich gleichzeitig die Saftblasen tödtete. Dabei sah ich nicht selten halbausgetretene Vacuolen, wie sie auf Taf. I in Fig. 3 dargestellt sind, durch das starke Aufquellen des Amylums völlig nach aussen geschoben und isolirt werden. Anderenfalls sah ich in Zellen in dem auf Taf. I in Fig. 9 abgebildeten Zustand, die allseitig von aufquellender Stärke umringten Vacuolen zu den sonderbarsten Formen eingedrückt werden, indem sie dort Einstülpungen erhielten, wo gerade

1) Um Präparate unter dem Mikroskope zu erwärmen und sie während der Erwärmung unausgesetzt beobachten zu können, wende ich folgendes einfache Verfahren an. Ein kleiner lockerer Wattenpfropf, der an einem Kupferdraht befestigt ist, wird in eine Spiritusflasche eingetaucht und wenn er gut benetzt ist, an einer brennenden Lampe entzündet. Jetzt bringe ich die bewegliche Flamme unter die Oeffnung des Mikroskoptisches, indem ich den Draht in der Hand festhalte. Hält man die Flamme höher oder tiefer, anhaltend oder mit Unterbrechungen an jene Stelle, so kann man das Präparat leicht nach Willkür rascher oder langsamer erwärmen.

grosse Stärkekörner aufquollen, um sich zwischen diesen Körnern wieder auszudehnen. Es dauerte aber auch hier in der Regel nicht lange, bis die Blasen unter dem Einfluss der Wärme erstarrten und für das Eosin permeabel wurden.

Nach diesen Beobachtungen scheinen die Vacuolenwände der *Spirogyra*, wie sie überhaupt gegen schädliche Einflüsse widerstandsfähiger sind als das übrige Protoplasma, so auch sich gegen Temperaturen in der Nähe der oberen Grenze etwas resistenter zu verhalten. Doch ist die niedrigste tödtliche Temperatur für sie jedenfalls nicht weit von der Lebensgrenze der übrigen Theile der Protoplaste verschieden.

Um nun das Platzen der Vacuolen beim Ueberschreiten dieser Grenze besser zu studiren und es mit dem nämlichen Vorgange in den normal plasmolysirten Zellen zu vergleichen, habe ich folgendes Mittel gewählt, welches die Entstehung und die Lage der Risse bequem sichtbar machte, ja letztere noch an aufbewahrten Präparaten zu demonstriren gestattete. Ich benutzte als Material wiederum die *Spirogyra*, da diese in ihrem Zellsaft Gerbstoff enthält, und setzte der äusseren Flüssigkeit ein Eisensalz zu; dadurch musste, im Augenblick, wo die den Zellsaft einschliessende Blase einen Riss bekam, in oder vor diesem ein Niederschlag von gerbsaurem Eisen entstehen und so Bildung und Lage des Risses kenntlich machen.

Aus der betreffenden Versuchsreihe möge der auf Taf. IV in Fig. 6 abgebildete Fall zur Beschriebung ausgewählt werden. In der zehnprocentigen Salpeterlösung hatte sich die Hautschicht und das Chlorophyll nur wenig contrahirt, bevor es starb; die Vacuole hatte sich in zwei Theile gespalten, welche sich zu Kugeln abrundeten. Jetzt wurde ein Tropfen derselben Salzlösung, welche aber ausserdem noch essigsaures Eisen enthielt, auf das Präparat gesetzt; die beiden Vacuolen wurden dadurch zunächst nicht verändert. Als ich nun in der beschriebenen Weise langsam erwärmte, sah ich nach einiger Zeit eine der Vacuolen an einer bestimmten Stelle platzen; es bildete sich unter meinen Augen plötzlich ein dunkelblauer Niederschlag aus gerbsaurem Eisen. Dieser schien den Riss nach Art einer Niederschlagsmembran zu verstopfen, denn einige Secunden später zerriss die Vacuole nochmals, aber an einer anderen Stelle, und es bildete sich wiederum ebenso plötzlich ein dem vorigen gleiches Präcipitat. Die Wand der Vacuole war nun etwas zusammengefallen und ohne Glanz, also wohl auch ohne Spannung; ihr Inhalt färbte sich beim

weiteren Erwärmen nicht mehr blau. Die zweite Vacuole war noch lebendig und platzte erst später. Eine andere Zelle, wie die beschriebene, aber aus demselben Präparate, zeigte mir der Hauptsache nach dieselben Erscheinungen und eignete sich besser zu einer Figur; ich stellte sie deshalb in Fig. 6 auf Taf. IV dar.

Jetzt suchte ich dieselbe Erscheinung auch an normal plasmolysirten Zellen der *Spirogyra* auf. Ich bewirkte die Plasmolyse mit einer Rohrzuckerlösung von 25 pCt. (isotonisch mit 5 pCt. Salpeter) und setzte das essigsaure Eisen schon nach wenigen Minuten zu, nachdem ich mich vorher vom Eintreten der Plasmolyse überzeugt hatte. Sofort unter dem Mikroskop erwärmt, platzten die nur schwach plasmolysirten Protoplaste unter meinen Augen und bildeten ähnliche dunkelblaue Ballen des Niederschlages, wie die isolirten Vacuolen im vorigen Versuch.

Auch in diesem Punkte war also kein Unterschied zwischen dem Verhalten der ganzen Protoplaste und dem der Vacuolenwände zu erkennen.

Wird die Zuckerlösung beim Zusatz des Eisensalzes im vorigen Versuche verdünnt, so platzen zahlreiche Protoplaste auch ohne Erwärmung und man sieht die nämlichen Erscheinungen der Niederschlagbildung. Je stärker eine Zelle plasmolysirt und je mehr dadurch ihr Zellsaft concentrirt war, um so dichter war der Niederschlag, um so zahlreicher die Fälle, wo er den entstandenen Riss verstopfte, wie aus dem Auftreten von zwei, drei oder mehreren getrennten blauen Körnerhäufchen an demselben Protoplasten zu erschliessen war. In sehr schwach plasmolysirten Zellen verbreitete sich der Niederschlag von derjenigen Stelle, wo er am dichtesten, und wo also offenbar der Schlauch zerrissen war, mehr oder weniger weit in die Vacuole hinein, wobei er allmählig an Dichte abnahm; offenbar war der Riss hier nicht verstopft worden, und hatte das Eisensalz somit die Gelegenheit gehabt, durch die entstandene Oeffnung in die Vacuole einzudringen. Auch in Zellen mit fast unmerklicher Plasmolyse sah ich die örtlichen blauen Körnerhaufen, oder diese und den von ihnen aus sich im Zellsaft mehr oder weniger tief hinein verbreitenden Niederschlag.

Bemerkung verdient es, dass bei dieser Behandlung weder die Zellkerne noch auch die Chlorophyllbänder oder das äussere Protoplasma eine bläuliche oder schwarze Farbe annahmen. Sie enthalten im Leben offenbar keinen Gerbstoff, dieser ist auf den Zellsaft beschränkt. Ich bemerke dieses, weil bei der üblichen Behandlung von gerbstoffhaltigen Zellen mit Eisensalzen, ohne

vorherige Plasmolyse, das Eisen oft so langsam eindringt, dass der Gerbstoff die Zeit hat, durch die sterbende Wand der Vacuole hinauszudiffundiren, wonach er vom Kern und den Chlorophyllkörpern und zum Theil auch wohl vom sonstigen Plasma oder gar von der Zellhaut absorbirt wird. Man findet dann diese Theile von gerbsaurem Eisen intensiv gefärbt; den Zellsaft oft ohne Niederschlag. Ich beobachtete dieses auch an meiner *Spirogyra nitida* in mehrfachen Versuchen. Nur die Anwendung der Plasmolyse kann hier den wahren Sachverhalt erkennen lassen [1]).

Die bis jetzt beschriebenen Versuche veranlassen mich, in Verbindung mit den Resultaten der beiden vorhergehenden Paragraphen, dazu, die verschiedenen Arten des Sterbens für die Protoplaste und die Vacuolenwände nochmals eingehend zu vergleichen.

Die Veränderungen, welche die plasmolytisch contrahirten und vom übrigen Plasma isolirten Wände der Vacuolen bei ihrem Tode erleiden, sind nach dem Vorhergehenden im Wesentlichen zweifacher Art. Entweder erstarren sie ohne Contraction, oder sie platzen und schrumpfen zusammen. Genau so verhalten sich aber die ganzen Protoplaste im plasmolysirten Zustand, wenigstens in Zellen mit Zellsaft; auch sie können ohne Contraction momentan erstarren oder platzen und sich contrahiren. Gilt nun dasselbe auch in nicht plasmolysirten Zellen? Dass auch hier das Protoplasma ohne jede Contraction fixirt werden kann, ist allgemein bekannt, es geschieht dieses stets, wenn es plötzlich oder doch wenigstens so rasch getödtet wird, dass es keine Zeit hat, sich zu contrahiren. Wenn es aber langsam stirbt, wird es dann platzen und zusammenschrumpfen?

Die Antwort auf diese Frage schliesst eine andere in sich. In zahlreichen Fällen, wo das Protoplasma, ohne die Einwirkung wasserentziehender Mittel langsam gestorben ist, z. B. nach langsamer Erwärmung bis über die Temperaturgrenze oder nach dem Zusatz äusserst verdünnter Lösungen von giftigen Substanzen, findet man es bekanntlich in den Zellen zusammengeschrumpft, ja es wurde früher häufig das todte Protoplasma allgemein als contrahirt beschrieben [2]). Nachdem aber in dem letzten Jahr-

1) Vergl. auch Abschnitt III, § 5.

2) Wenn zur Tödtung Alkohol, Glycerin oder starke Säuren benutzt worden sind, so ist es häufig gewiss, dass die Protoplaste erst plasmolytisch

zehnt die Methode des Fixirens mehr in den Vordergrund getreten ist, scheint es mir zeitgemäss, die Frage zu stellen, welche wohl die Ursache jener Contraction der wandständigen Plasmaschläuche bei ihrem langsamen Tode ist?

Im Anschluss an die Erfahrungen über das Sterben im plasmolytischen Zustande liegt es nun auf der Hand, anzunehmen, dass auch ohne Plasmolyse die langsam sterbenden Protoplaste platzen und aus dem nämtlichen Grunde sich contrahiren werden, wie in jenem Zustand. Ist dem aber so, so wäre die Contraction gestorbener Protoplaste allgemein in dieser Weise zu erklären, und die betreffenden Fälle würden sich dann direct der oben aufgestellten Regel unterordnen. Diese würde dann so lauten: Das wandständige Protoplasma erstarrt beim plötzlichen Tode ohne Contraction, beim langsamen Tode aber platzt es und zieht sich dann elastisch zusammen, bevor es starr wird; so verhält es sich sowohl mit als ohne Plasmolyse, und so verhalten sich auch die isolirten Zellsaftblasen nach dem Tode der übrigen Plasmatheile.

Auch in dieser Hinsicht bestände somit Uebereinstimmung zwischen der Vacuolenwandung und den übrigen Theilen der Protoplaste.

Um diese Uebereinstimmung auch hier als bewiesen betrachten zu dürfen, müssen wir aber für die gemachte Annahme betreffs der Contraction ohne Plasmolyse eine feste Grundlage zu gewinnen suchen. Und obgleich die gegebene Erklärung eine höchst einfache, und durch unsere bisherigen Erfahrungen vielseitig gestützte ist, scheint es mir doch keineswegs überflüssig, sie einer eingehenderen Erörterung zu unterwerfen.

Die Contraction eines sterbenden Protoplasten kann im Allgemeinen von zwei Ursachen herrühren. Die eine ist eine Volumverminderung der protoplasmatischen Substanz (nicht des Zellsaftes) unter Ausstossung eines Theiles des Imbibitionswassers, die andere aber eine elastische Zusammenziehung vorher gedehnter Theile im Augenblicke, wo der Widerstand gegen diese Zusammenziehung an irgend einer Stelle aufgehoben wird. Wo z. B. in einer jungen Zelle ein solider Protoplast, der also keine Vacuolen besitzt, sich beim Tode ohne Anwendung wasserentziehender Mittel con-

contrahirt werden konnten, bevor sie starben, und dass die beobachtete Contraction also dieser Ursache und nicht dem Tode zuzuschreiben war. Von der Plasmolyse durch Säuren werde ich im nächsten Abschnitt Beispiele erwähnen, und zeigen, wie ihr eine nachträgliche Ausdehnung zu folgen pflegt, welche wohl stets zu einem Platzen führt.

trahirt, wird allgemein die erstgenannte Ursache als die wirksame angenommen. Wenn aber in älteren Zellen der Protoplast durch die Volumzunahme des Zellsaftes sehr stark gedehnt und in eine häufig dünne wandständige Blase verändert worden ist, da kann man offenbar nicht ohne Weiteres die erstere Ursache als die allein maassgebende betrachten. Und sobald es nachgewiesen ist, dass die Ausdehnung des Schlauches beim Wachsthum, wenigstens der Hauptsache nach, eine elastische ist, wird die Betheiligung der zweiten Ursache von vornherein als wahrscheinlich anzunehmen sein.

Die Erscheinungen der Plasmolyse erweisen nun meiner Ansicht nach mit voller Klarheit, dass der wandständige Schlauch in normaler Lage sehr stark elastisch gedehnt ist. Denn wenn man durch Zuckerlösung oder durch ein unschädliches Salz dem Zellsaft Wasser entzieht, ohne gleichzeitig das Protoplasma auch nur theilweise zu tödten, so zieht sich dieses zusammen ohne Falten zu werfen, und es behält auch bei sehr ansehnlicher Verminderung seiner Oberfläche noch stets die Merkmale vorhandener Spannung. Auf Taf. IV habe ich in Fig. 2 eine Zelle von *Spirogyra nitida* abgebildet, welche in einer zehnprocentigen Salpeterlösung normal plasmolysirt war. Man sieht auf dem ersten Blick, wie äusserst stark die Flächenabnahme der Hautschicht war [1]). Aber auch die Chlorophyllbänder, das Körnerplasma und die Wand der Vacuole haben sich in ähnlicher Weise contrahirt, und zwar alle ohne zu sterben. Ich nahm diese Zellen aus einer Cultur, in der die Fäden durch mehrtägigen Aufenthalt im Dunklen in einem erwärmten Raume sehr arm an Stärke und sonstigen Inhaltsstoffen geworden waren und die Zellen selbst zumeist eine ungewöhnliche Länge erreicht hatten.

Einen lehrreichen Fall der elastischen Contraction des lebenden Plasma habe ich auf Taf. IV in Fig. 7 A und B abgebildet. Fig. 7 A stellt eine Zelle von *Spirogyra nitida* vor, welche in der zehnprocentigen Salpeterlösung normal plasmolysirt war. Die Vacuole war zu zwei Kugeln getheilt, welche durch einen langen Strang verbunden waren. Letzterer bestand nur aus Hautschicht, Körnerplasma und Chlorophyll und enthielt keinen Theil der Vacuolenwand oder des Zellsaftes, wie in ähnlichen

1) Einige Erscheinungen der Plasmolyse in Zuckerlösungen lehren eine starke Contraction auch ohne Anwendung von solchen Lösungen kennen, welche eine grössere osmotische Kraft haben als der Zellsaft. Vergl. Abschnitt III, § 4.

Zellen sich leicht durch Osmiumsäure nachweisen liess, denn der Strang bleibt darin grün und hell, während die Zellsäfte einen schwarzen Niederschlag enthalten (vergl. S. 366). Jetzt erwärmte ich die in Fig. 7 A abgebildete, noch völlig lebende Zelle unter dem Mikroskope langsam und vorsichtig. Bald sah ich nun den Strang sich verkürzen, die grössere Vacuole behielt ihre Stelle, die obere näherte sich ihr langsam. Nach fünf Minuten war die in Fig. 7 B dargestellte Lage erreicht, der Strang noch lebendig. Doch starb er beim weiteren Erwärmen, worauf bald die Vacuolen platzten. Zu verschiedenen Jahreszeiten habe ich diesen Versuch mit Zellen aus verschiedenartigen Culturen wiederholt und unter günstigen Umständen die Erscheinung stets zurückgefunden. In diesen Versuchen wirkte das Erwärmen wohl vorwiegend dadurch, dass es die Protoplaste in den Stand setzte, gewisse noch vorhandene Widerstände gegen die Bewegung zu überwinden, ähnlich wie durch Erwärmen das Ankleben der plasmolysirten Protoplaste an die Zellhaut vermindert und ihr Streben zur Abrundung begünstigt wird.

Vergleichen wir nun mit der Figur 2 auf Taf. IV die nebenstehende Figur 3, welche eine Endzelle aus derselben Cultur vorstellt, nachdem sie, ohne Hülfe der Salpeterlösung und also ohne Plasmolyse, durch eine sehr schwache, nur 0,00002 Aeq. enthaltende Lösung von Quecksilberchlorid getödtet worden war. Das Protoplasma hatte sich in den meisten Zellen dieses Präparates von der Wand zurückgezogen, doch stets nur wenig. Die Contraction war viel geringer als die des lebendig plasmolysirten Schlauches in Fig. 2 und die elastische Dehnung des lebenden Schlauches reicht also völlig aus, um diese Contraction zu erklären.

Stärkere Dosen von Quecksilberchlorid lassen das ganze Protoplasma unserer *Spirogyra* momentan erstarren, sie machen jede Contraction unmöglich, wie wir im vorigen Paragraphen gesehen haben. Daraus folgt aber, dass die hier beschriebene Zelle nicht plötzlich, sondern nur allmählig gestorben ist [1]), und wir dürfen also auf die Erklärung ihrer Contraction die aus dem ersten Abschnitt sich ergebenden Regeln für das langsame Sterben anwenden. Dort haben wir aber gesehen, dass beim langsamen Tode die einzelnen Theile der Protoplaste nicht zu gleicher Zeit sterben,

1) Auch Hofmeister sagt, dass die Protoplaste der Spirogyra beim langsamen Tode sich contrahiren, beim plötzlichen Sterben aber ohne Ablösung von der Zellhaut erstarren.

sondern dass die Wand der Vacuole länger am Leben bleibt als die übrigen Organe und ferner, dass die Hautschicht und das Körnerplasma äusserst leicht, selbst ohne andere Veranlassung als ihre eigene Contraction, stellenweise zerreissen. Ich erinnere daran, dass die Vacuolen der *Spirogyra* ganz gewöhnlich sich aus den sterbenden Theilen befreiten (z. B. Taf. I, Fig. 2, 3, 4), oder diese sogar gänzlich abstreiften (z. B. Taf. IV, Fig. 1 A).

Wenden wir diese Erfahrungen auf die in Fig. 3 (Taf. IV) abgebildete Zelle an, so müssen wir annehmen, dass auch bei ihrem langsamen Tode zunächst das äussere Protoplasma zerrissen, contrahirt und erstarrt ist, und dass darauf der Tod der Vacuolenwand folgte. Wenn aber nun auch diese nach längerer oder kürzerer Zeit platzt 1), ist sie in ihrer Contraction durch das anhaftende, bereits erstarrte, äussere Plasma bedeutend verhindert und es erklärt uns dieser Umstand, weshalb das Ganze nur eine so geringe Volumverminderung aufweist.

Dass thatsächlich die zusammengefallenen Schläuche geplatzt sind, glaube ich, obgleich ich den Riss oder die Risse in diesem faltigen körnigen Körper gewöhnlich nicht auffinden konnte, dennoch aus ihren sichtbaren Eigenschaften ableiten zu dürfen. Und zwar aus dem Umstande, dass ihre Oberfläche nicht wie die einer plasmolysirten und darauf momentan fixirten Vacuolenwand glatt und wie gespannt aussieht, sondern gänzlich mit grösseren und kleineren Falten wie besäet ist. Denn daraus scheint mir hervorzugehen, dass der sterbende Schlauch beim Ausstossen eines Theiles seines Inhaltes keinen irgendwie bedeutenden Widerstand zu überwinden hatte.

Vielleicht erhalten die fixirten Schläuche bei diesem Process zahllose äusserst kleine Risse. In beiden Fällen würde die Permeabilität des todten Protoplasma wenigstens zu einem guten Theile auf diesen beruhen.

Fassen wir die wichtigsten Ergebnisse dieses Paragraphen kurz zusammen, so finden wir:

1. dass sowohl die ganzen Protoplaste als auch die isolirten Vacuolenwände im plasmolysirten Zustande durch verschiedene Mittel zum Platzen gebracht werden können;

---

1) Dass langsame Sterben und das Platzen der isolirten Zellsaftblasen im plasmolytischen Zustand durch Zusatz von verdünnten Säuren oder anderen Giften ohne Verdünnung des plasmolytischen Reagens habe ich mehrfach beobachtet. Vergleiche zumal den folgenden Abschnitt.

2. dass beide dabei zu faltigen, spannungslosen, unscheinbaren Häutchen zusammenfallen;
3. dass in beiden Fällen die sichbare Contraction vorwiegend, wenn nicht ausschliesslich, in einem elastischen Zusammenziehen der vorher stark gespannten Blasen besteht.

§ 6. Das allmählige Erstarren der Vacuolenwandung.

Beweglichkeit ist das Merkmal des lebenden Protoplasma, Starre das des todten. Sämmtliche Organe der Protoplaste gehen beim Tode in den starren Zustand über, unter ihnen im Besonderen auch die Wand der Vacuole. Ebensowenig aber, wie in jenen dieses Erstarren nothwendigerweise plötzlich eintritt, ist solches auch in diesen der Fall. Ja, man kann durch eine geeignete Behandlung das Erstarren der Vacuolenwände äusserst langsam vor sich gehen und den ganzen Process über Stunden, ja selbst über mehrere Tage sich ausdehnen lassen.

In § 3 haben wir die wichtigsten Eigenschaften kennen gelernt, welche die erstarrten Protoplaste von den frischen, erst vor Kurzem isolirten unterscheiden, und wir wollen jetzt diese Kenntniss dazu verwenden, um die allmählige Zunahme dieser Eigenschaften zu studiren.

Ehe ich dazu übergehe, möchte ich aber noch hervorheben, dass auch während des Lebens bei zunehmendem Alter das Protoplasma, wenn auch oft sehr langsam und jedenfalls in viel geringerem Grade wie beim Tode an Beweglichkeit allmählig einbüsst. Es verhält sich mit dem Protoplasma in dieser Beziehung genau wie mit unserem eigenen Körper, der auch mit jedem Jahre merklich an Beweglichkeit verliert. Für die Pflanze beschrieb bereits Mohl in dem berühmten Aufsatze, in welchem er die Bedeutung des zähflüssigen Inhaltes der Pflanzenzellen für das Leben erkannte, und für diese lebende Substanz den Namen Protoplasma vorschlug [1]), das allmälige Festerwerden dieser Substanz in alternden Zellen [2]). Das historische Interesse, welches sich an diese bahnbrechenden Untersuchungen Mohl's knüpft, veranlasst mich, die fraglichen Beobachtungen hier statt vieler anderer mit seinen eigenen Worten zu gedenken.

---

1) Hugo v. Mohl, Ueber die Saftbewegung im Innern der Zellen. Botan. Ztg. 1846, S. 73. Vergl. auch Bot. Ztg. 1844, S. 273.

2) l. c. 1846, S. 94.

Für die Zellen mit centralen Plasmaströmchen beschreibt er, dass, je älter die Zelle wird, desto mehr die Substanz der Strömchen zu erhärten scheint, so dass sie wenigstens in einzelnen Fällen ihre Flüssigkeit ganz verliert und die Strömchen zu festen Fäden werden. Am auffallendsten sah er diese Erscheinung im Fleische der Früchte von *Rhamnus Frangula*, in welchem einzelne Zellen liegen, welche weit grösser als die umliegenden Zellen sind und in welchen ein an Fäden befestigter Nucleus liegt. Diese Fäden besitzen eine so grosse Festigkeit, dass sie sich mit einem scharfen Messer quer durchschneiden lassen und in ihrer Lage bleiben. Aehnliche feste Fäden sah er in den grösseren Zellen des Fruchtparenchyms von *Ribes nigrum*; auch hier kann die obere und untere Seite der Zelle weggeschnitten werden, ohne dass die durch die Mitte derselben verlaufenden Fäden aus ihrer Lage gebracht werden.

Wenden wir uns nach dieser Abschweifung zu unserer eigentlichen Aufgabe, so fragt es sich zunächst, aus den früheren Angaben ein Mittel abzuleiten, um uns über die allmählige Zunahme der Todesstarre in den isolirten Vacuolenwänden zu belehren. Am meisten empfiehlt es sich für diesen Zweck, zu untersuchen, wie das Vermögen der contrahirten Saftblasen, um beim Verdünnen der äusseren Lösung sich auszudehnen, sichtbar zu platzen und zusammenzuschrumpfen, allmählig erlischt. Und da auch in diesem Punkte die isolirten Saftblasen sich nicht wesentlich anders verhalten als die ganzen Protoplaste, so halte ich es für zweckmässig, die fraglichen Veränderungen zunächst an letzteren und erst nachher an den ersteren zu studiren.

In meinen Untersuchungen über die mechanischen Ursachen der Zellstreckung (*Opera* I, S. 423—428) habe ich berichtet, dass junge noch wachsende Sprosse, nachdem ihre Zellen durch einen zweistündigen Aufenthalt in der zehnprocentigen Salpeterlösung plasmolysirt waren, das Auswaschen des Salzes ohne Schaden ertragen und nachher ruhig weiter wachsen können. Nach längerem Aufenthalt aber ist das Aussüssen des Salzes dem Leben schädlich.

Aeltere Gewebe ertragen häufig weder die Einwirkung jener Salzlösung noch auch das Auswaschen schwächerer Lösungen. Auch scheint das rasche Eindringen des Salzes in mikroskopische Präparate gefährlicher zu sein als das langsamere in ganze, wenn auch dünne Sprosstheile.

Ich komme jetzt zu der Beschreibung einiger Versuche über den allmähligen Verlust des Vermögens, das Auswaschen ohne

Schaden zu ertragen, welche ich mit mikroskopischen Präparaten angestellt habe. Zu diesen benutzte ich Schnitte aus der violetten Oberhaut erwachsener Blätter von *Tradescantia discolor* welche gegen Verdünnung der plasmolysirenden Lösung sehr empfindlich sind. Schon bei schwacher Plasmolyse in 2 pCt. Salpeter ertrugen sie nach einer Stunde das Auswaschen mit Wasser nicht. Brachte ich sie aber nach jener Stunde erst in 1 pCt. KNO_3 und dann nach einer weiteren Stunde in Wasser, so verschwand die Plasmolyse vollständig und die Zellen blieben am Leben. Vier Tage später fand ich die Präparate noch ganz normal.

Hat man aber die Präparate statt einer Stunde einen ganzen Tag in 2 pCt. Salpeterlösung aufbewahrt, so ertragen sie jetzt den Transport in 1 pCt. KNO_3 und darauf in Wasser nicht mehr; in sämmtlichen Zellen findet man die Protoplaste gestorben und den Zellsaft entfärbt.

Andere Präparate wurden in einer Zuckerlösung von 10 pCt. plasmolysirt. Nach einer Stunde, als die Contraction der Protoplaste sichtlich beendet war, wurden einzelne in Zuckerlösung von 5 pCt. gebracht, wo innerhalb einer weiteren Stunde die Plasmolyse in allen Zellen verschwand, ohne dass ihre Protoplaste starben. Jetzt in Wasser gebracht, erhielten sich die Präparate während zwei Tage und länger ohne merkliche Veränderung. Nach eintägigem Aufenthalt in der Lösung von 10 pCt. in derselben Weise behandelt, starben sehr zahlreiche Zellen am Rande der Präparate, die in der Mitte blieben aber am Leben. Nach zweitägigem Aufenthalt in der ursprünglichen Flüssigkeit in eine Lösung von 5 pCt. gebracht, dehnten sich die Protoplaste viel langsamer aus, nach einer Stunde war in keiner Zelle die Plasmolyse verschwunden, aber zahlreiche Zellen gestorben, wohl indem ihre Protoplaste geplatzt waren. Nach einer weiteren Stunde waren in derselben Lösung weitaus die meisten Zellen gestorben, nur in einem Präparate waren in der Mitte zahlreiche noch violette Zellen, theils ohne, theils mit geringfügiger Plasmolyse.

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass bei normaler schwacher Plasmolyse in Salpeter und in Rohrzucker nach einer Stunde ein stufenweises Auswaschen ohne Schaden ertragen wird, dass dieses Vermögen aber bald abnimmt, und nach 1—2 Tagen verschwunden ist, obgleich die Protoplaste in den ursprünglichen Lösungen noch anscheinend lebendig sind. Wir dürfen daraus weiter folgern, dass die Protoplaste während des Aufenthalts in den künstlichen Lösungen allmählig starrer geworden sind, und

somit, dan das Erstarren ein langsamer, den endlichen Tod allmählig vorbereitender Process ist.

Am Schlusse des ersten Abschnittes habe ich mitgetheilt, dass man durch verschiedene Gifte, wenn diese in sehr geringen Gaben angewandt werden, die Hautschicht und den Zellkern tödten kann, ohne gleichzeitig auch die Wand der Vacuole zu vernichten. Am bequemsten wendet man zu diesem Zweck verdünnte Säuren an, welche gleichzeitig, wie gelegentlich bemerkt wurde, und wie im nächsten Abschnitt aurführlich behandelt werden soll, die plasmolytisch contrahirten Saftblasen veranlassen, sich auszudehnen.

Durch die Anwendung von Säuren kann man also die Fähigkeit der Zellsaftblasen, für sich allein und nach dem Tode des äusseren Plasma sich auszudehnen, prüfen. Dabei erhält man ähnliche Resultate wie mit den ganzen Protoplasten, wie aus den folgenden Versuchen hervorgeht. Ich benutzte Präparate, welche in KNO_3 von 4 pCt. plasmolysirt waren und in denen ich die Ausdehnung der Saftblasen durch eine ebenso starke Salpeterlösung, welche ausserdem noch 0,1 Aeq. Salpetersäure enthielt, ersetzte. Die Versuchsbedingungen waren also dieselben wie für den in Abschnitt III § 1 beschriebenen und auf Taf. III, Fig. 1 A—D abgebildeten Versuch, es wurden aber nicht, wie dort, die Randzellen, sondern die in der Mitte der Präparate beobachtet. Die Resultate waren die folgenden: Nach einstündigem Aufenthalt in der neutralen Lösung dehnten sich die Saftblasen sämmtlicher Zellen in der sauren Mischung zu grossen, den Zellraum nahezu erfüllenden Kugeln aus, ohne dass auch nach zwei weiteren Stunden eine irgendwie merkliche Zahl gestorben wäre. Nach 1—2 tägigem Aufenthalt in der neutralen Flüssigkeit dehnten die Zellsaftblasen sich in der sauren Lösung zwar noch aus, aber nach zwei Stunden war bereits der grösste Theil unter ihnen geplatzt und gestorben. Das Vermögen, die Ausdehnung zu ertragen, hatte also beim längeren Aufenthalt in der anfänglichen Flüssigkeit bedeutend abgenommen, was, nach den früheren Ausführungen, eine allmählige Zunahme der Starre beweist.

Um auch das langsame Erstarren an solchen Vacuolen zu studiren, welche gleich anfangs durch den Tod der übrigen Theile von diesen getrennt waren, benutzte ich die in üblicher Weise isolirten und contrahirten Vacuolen der *Spirogyra nitida*.

Nach kurzer Einwirkung der Salzlösung von 10 pCt. pflegen sie sich in Wasser bedeutend auszudehnen und nach dem Platzen sich stark zu contrahiren (II, § 5). Nach mehrstündigem bis ein-

tägigem Aufenhalt dehnen sie sich langsam und wenig oder auch gar nicht mehr aus, platzen zwar noch, aber schrumpfen auch nur wenig zusammen. Sieht man letzteres unter dem Mikroskop vor sich gehen, so erkennt man an der eigenthümlichen langsamen, häufig localisirten Contraction sofort den halbwegs erstarrten Zustand ihrer Wände. Je länger die Einwirkung der Salzlösung oder je empfindlicher die Zelle für sie war, um so schwächer treten die beschriebenen Erscheinungen beim Auswaschen des Salzes hervor, bis endlich die Saftblasen darauf gar nicht mehr sichtlich reagiren.

Bisher betrachteten wir das Verhalten der Wände der Vacuolen gegen das Auswaschen plasmolysirender Salzlösungen. Wir wollen jetzt dazu übergehen, die Erscheinungen zu prüfen, welche diese Organe in schwachen Rohrzuckerlösungen in Bezug auf das langsame Erstarren bieten.

Im vorletzten Paragraphen des nächsten Abschnittes (III, § 4) werde ich zeigen, dass in Rohrzuckerlösungen von nur wenig grösserer osmotischer Kraft, wie der Zellsaft (z. B. 10 pCt.), die Plasmolyse zwar anfangs einen constanten Grad erreicht, dass aber nach einigen Tagen, wenn die Hautschichten und Kerne gestorben sind, die Wände der Vacuolen anfangen, sich stetig und langsam weiter zu contrahiren, ohne dabei zunächst für Farbstoffe wegsam zu werden. Und wenn endlich letztere Veränderung eintritt, so geschieht auch dieses langsam, und dauert es häufig mehrere Tage vom Anfange bis zum Ende des sichtbaren Erblassens einer einzelnen Zellsaftblase (vergl. Abschnitt III, § 2). In dieser Periode erstarren nun auch jene Wände langsam. Aus vielen Versuchen wähle ich den folgenden zu einer ausführlichen Beschreibung aus.

Präparate der violetten Blattoberhaut unserer *Tradescantia* wurden in einer Rohrzuckerlösung von 10,26 pCt. (isotonisch mit 2 pCt. Salpeter) gebracht. Bald trat in allen Zellen Plasmolyse ein, und nach etwa einem Tage waren sämmtliche Protoplaste zu grossen, die Zellen nahezu erfüllenden Kugeln abgerundet. Zahlreiche Präparate befanden sich in einem etwa 10 CC der Lösung enthaltenden engen Cylindergläschen und verweilten hier mehrere Tage. Am vierten und fünften Tage wurden die zu beschreibenden Beobachtungen gemacht, am siebenten waren nur noch hier und da Gruppen von contrahirten Saftblasen am Leben, am neunten waren auch diese gestorben.

Am vierten und fünften Tag zeigten die Präparate eine ausser-

ordentliche Variation in dem Grade der Plasmolyse und des Erstarrens und Erblassens ihrer Zellen, da das langsame Sterben in den einzelnen Zellen mit sehr verschiedener Geschwindigkeit stattfand. Zahlreiche Protoplaste waren noch völlig lebendig, wie zumal an den Kernen zu sehen war; sie bildeten ebenso grosse Kugeln wie am zweiten Tage. Daneben lagen andere, gleich grosse Kugeln, mit todten Kernen und Hautschichten, aber glatt gespannten Vacuolenwänden. In noch anderen Zellen waren die Kugeln schon etwas kleiner geworden, ihre Oberfläche war mehr oder weniger unregelmässig und faltig, ihr Inhalt noch dunkel violett gefärbt, wie solches auf Taf. III in Fig. 5 B dargestellt ist. Viel zahlreicher als diese waren die Zellen, deren Vacuolen schon bis auf etwa die Hälfte der ursprünglichen Grösse geschwunden und von einer runzeligen und geschrumpften Wand umgeben waren, wie in den soeben beschriebenen Zellen, deren Farbe aber mehr oder weniger erblasst war. Die zahlreichen Stufen des Erblassens und der Umstand, dass in der Nuance der Farbe jeder einzelnen Vacuole auch bei längerer Beobachtung keine Veränderung gesehen wurde, weist auf ein sehr langsames Schwinden der Farbe (vergl. Abschnitt III, § 2). Endlich waren mehrere Vacuolen in diesen Präparaten völlig entfärbt.

Diese Zustände stellen die verschiedenen Stadien vor, welche die einzelnen Zellsaftblasen während ihres langsamen Todes in dieser Lösung durchlaufen. Anfangs kugelig contrahirt, werden sie nach einigen Tagen durch den Tod der äusseren Plasmatheile isolirt und fangen dann an, langsam sich weiter zu contrahiren, wobei sie aber nicht glatt bleiben, sondern eine runzelige Oberfläche erhalten. Früher oder später fangen sie nun auch an, den Farbstoff des Zellsafts durchzulassen; die Farbe der Vacuole wird somit blasser, bis sie schliesslich oft erst nach mehreren Tagen völlig farblos geworden sind.

Um nun das Erstarren der Vacuolenwände während dieses langsamen Sterbens zu studiren brauchte ich nur die Zuckerlösung mit Wasser auszusüssen und dabei das Verhalten der verschiedenen Zellen zu beobachten. Dass sich die in den verschiedenen Stadien befindlichen Saftblasen dabei verschieden verhielten, ist wohl selbstverständlich; im Einzelnen beobachtete ich aber Folgendes: Unter den grössten Kugeln gab es mehrere, welche rasch und erheblich anschwollen, darauf platzten, ihren Inhalt ausstiessen, und stark zusammenschrumpften. Eine andere ebenso grosse Kugel sah ich etwa in einer Stunde verblassen, ohne zu-

nächst ihre Form zu ändern. Nach dieser Zeit war ihre Oberfläche noch glatt und wie gespannt. Jetzt platzte sie und fiel unter tiefer Faltenbildung zusammen. Diesen langsamen Verlust der Farbe ohne Formänderung sah ich an einer Reihe solcher Kugeln.

Anders verhielten sich die kleineren Vacuolen mit faltiger Oberfläche, wie z. B. die in Taf. III in Fig. 5 B dargestellte. Sie dehnten sich nicht aus und bekamen keine sichtbaren Risse, aber verloren dennoch ihren Farbstoff ziemlich rasch, häufig in 5—15 Minuten. Auch nachher schrumpften sie nicht zusammen, sie waren also bereits in hohem Grade erstarrt. Der rasche Verlust des Farbstoffes scheint aber auf das Entstehen kleiner Risse hinzudeuten, da ja sonst, wie bereits bemerkt, das Verblassen Stunden und Tage lang zu dauern pflegt.

Die runzeligen Vacuolenwände waren also merklich starrer als diejenigen, welche noch eine glatte Oberfläche besassen. Aber auch das Faltig- und Runzeligwerden selbst muss auf ein theilweises Erstarren beruhen, da wir wissen, dass frische Saftblasen unserer Pflanze in zehnprocentiger Salpeterlösung in kurzer Zeit weit stärker contrahirt als in den erwähnten Zellen, dennoch eine glatte Oberfläche besitzen.

Auf ein theilweises Erstarren der runzelig gewordenen Saftblasen deutet auch eine weitere, in demselben Versuche beobachtete Erscheinung. In den Zellen, welche während fünf Tage in der Zuckerlösung verweilt hatten, und welche in dieser unter das Mikroskop gebracht waren, sah ich ohne Verdünnung der Lösung bisweilen eigenthümliche blasenförmige Ausstülpungen auf den stark contrahirten Vacuolen. Drei dieser Zellen habe ich auf Taf. III in Fig. 5 A, B und C abgebildet.

Ihre Vacuolen waren bis auf weniger als die Hälfte des Zelllumens zusammengeschrumpft, ihr Zellsaft hatte an Intensität der Farbe noch nicht sichtbar verloren. Die Oberfläche war faltig und runzelig, die Form mehr oder weniger elliptisch oder unregelmässig. Zerstreut über diese Oberfläche sah ich nun kleine mit dem violetten Zellsaft gefüllte Blasen, welche in einigen Zellen wenig zahlreich waren (Fig. 5 A und B), in anderen aber der Blase im optischen Durchschnitt in grösserer Zahl allseitig aufsassen. Ihre Grösse sowie ihre Gestalt waren ebenfalls verschieden; letztere wechselte aber meist zwischen der einer halben und der einer ganzen Kugel ab (Fig. 1 C). Die Entstehung dieser Ausstülpungen scheint darauf hinzudeuten, dass das Erstarren an einzelnen Stellen langsamer vor sich ging als an anderen, denn in diesem Fall

müssen erstere bei der stetigen Contraction des Ganzen leicht hervorgetrieben werden.

Aehnliche Ausstülpungen beobachtete ich auch bei derselben Art in einer gleich starken Zuckerlösung, in der ich das Sterben durch einen bedeutenden Gehalt an Salpetersäure (0,5 Aeq.) beschleunigt hatte.

Ich möchte hier noch bemerken, dass man an Protoplasten, deren Hautschicht gestorben, deren Vacuolenwand aber noch völlig glatt und gespannt ist, bisweilen Einschnürungen, und also zwischen diesen mehr oder weniger hervorragende Partien sieht. Die Ursache dieser auf Taf. III in Fig. 5 D und E bei a abgebildeten Einschnürungen muss wohl in dem Zerreissen der Hautschicht zu Bändern und Fäden gesucht werden, denn man sieht diese gewöhnlich deutlich an ihren tiefsten Stellen. Dieselbe Ursache kann aber die oben beschriebenen Ausstülpungen nicht bedingen, da diese erst entstehen nachdem die Hautschicht schon einige Tage vorher gestorben war und die Wand der Vacuole sich in dieser Zeit sehr bedeutend contrahirt hatte.

Uebersicht der Resultate.

Als Hauptresultat der in diesem Abschnitte mitgetheilten Versuche und Erörterungen betrachte ich den Satz, dass die Wand der Vacuolen mit den übrigen Theilen der Protoplaste, und namentlich mit der Hautschicht, in ihren wichtigsten Eigenschaften derart übereinstimmt, dass sie als ein eigenes, den übrigen gleichwerthiges Organ angesehen werden muss.

Die Punkte, in denen diese Uebereinstimmung stattfindet, beziehen sich theils auf normale physiologische Funktionen, theils auf das Verhalten gegenüber plasmolytischen und anderen Reagentien.

In ersterer Beziehung zeigt die Wand der Vacuole namentlich zu der Hautschicht eine grosse Verwandtschaft, und die wichtigsten Erscheinungen, aus denen diese hervorgeht, sind ohne Zweifel die folgenden:

1. Beide sind gegen gelöste Stoffe in nicht oder kaum nachweisbarem Grade permeabel 1) und schützen dadurch die von ihnen eingeschlossenen Theile des Protoplasten in sehr wirksamer Weise gegen schädliche Einflüsse.

1) Vergleiche hierüber die Einleitung zum nächsten Abschnitt.

2. Beide scheiden auf ihrer freien Oberfläche bestimmte Stoffe ab, sei es, dass diese im festen Zustande abgelagert werden, wie das Hauptprodukt der Hautschicht, die Cellulose, oder im flüssigen Zustande frei werden, wie z. B. die im Zellsaft angehäuften organischen Säuren.
3. Beide fungiren in bestimmten Fällen (Plasmodien, centrale Circulationsbewegung) als autonomes Bewegungsorgan (II, § 2).

Aus dem Verhalten der Wand der Vacuole gegenüber plasmolytischen Reagentien hebe ich die folgenden Punkte als diejenigen hervor, welche ihre Analogie mit den übrigen Organen der Protoplaste am deutlichsten ans Licht treten lassen.

Nach dem Tode des äusseren Protoplasma contrahirt sich jene Wand unter der Wirkung starker wasserentziehender Mittel im Allgemeinen in derselben Weise, wie es unter ähnlichen Umständen die ganzen noch lebenden Protoplaste zu thun pflegen. Sie bleiben, auch bei sehr bedeutender Abnahme ihrer Oberfläche, völlig glatt und gespannt und werfen keine Falten. Es geht daraus hervor, dass sie im normalen Verbande elastisch gedehnt waren; sie ziehen sich zusammen, wenn die dehnende Kraft, die osmotische Wirkung des Zellsaftes, zu wirken aufhört. Ueberlässt man die stark contrahirten Zellsaftblasen während mehrerer Stunden sich selber und waren sie anfangs stellenweise an die Zellhaut festgeklebt und also von etwas gezerrter Form (z. B. *Tradescantia*), oder waren sie durch die umgebenden todten Theile des Plasma örtlich geknellt (z. B. *Spirogyra*), so pflegen sie sich allmählig abzurunden und im letzteren Falle sich aus ihren Bändern herauszuschieben. Allseitig frei geworden, nehmen sie Kugelform an. Durch nicht zu starke Erwärmung konnte ich häufig Erscheinungen wesentlich beschleunigen. In allen diesen Hinsichten verhalten sich die isolirten Wände der Vacuolen genau wie die Hautschicht völlig gesunder Protoplaste unter ähnlichen Bedingungen.

Dieselbe Uebereinstimmung finden wir in dem Vermögen, sich nach starker Plasmolyse, beim Verdünnen des plasmolytischen Reagens, wieder auszudehnen, ohne dabei zu sterben; auch erlischt in beiden Fällen dieses Vermögen im plasmolytischen Zustande sehr bald. Die Wände der Vacuolen können überdies, ohne Verdünnung des Reagens, durch Zusatz von Säuren zu einer ähnlichen Ausdehnung veranlasst werden, was wenigstens bis jetzt, für die Hautschicht nicht bekannt ist.

Es gelang mir, die lebendigen Vacuolen durch ganz kleine Oeffnungen ihrer erstarrten Umhüllung hinauszupressen (*Spirogyra*), sie verhielten sich dabei ähnlich wie z. B. Schwärmsporen, welche durch eine kleine Oeffnung in der Haut der Mutterzelle entschlüpfen.

Endlich sei noch daran erinnert, dass genau wie die Hautschicht bei der Plasmolyse häufig in ihrer Mitte an einer oder mehreren Stellen eingeschnürt und zu feinen Röhren und Fäden ausgezogen wird, nach deren Zerbrechen die Theilkörper sich mit völlig glatter Oberfläche abrunden, dieselben Erscheinungen auch an den isolirten Vacuolen beobachtet werden.

Die Erscheinungen der Plasmolyse lehren also, dass die Wand der Vacuole, auch nach dem Isoliren, wenigstens in den ersten Momenten nach dieser Operation, dieselbe Beweglichkeit, dieselbe Dehnbarkeit und Elasticität und endlich dasselbe Vermögen der Theilung und der Abrundung der getrennten Hälften besitzt, welche in so hohem Maasse für die lebende Hautschicht charakteristisch sind.

Ferner sterben die Vacuolenwandungen im Allgemeinen durch dieselben Ursachen wie die übrigen Theile der Protoplaste, wenn auch ihre Resistenz durchweg eine etwas grössere ist. Auch die obere Temperaturgrenze ihres Lebens weicht nicht wesentlich von der der übrigen Organe der Protoplaste ab. Reagentien, welche das ganze Protoplasma momentan tödten, ohne ihm zu erlauben, sich auch nur in geringem Maasse zu contrahiren, fixiren im Allgemeinen auch die Wand der Vacuole in derselben Weise. Wendet man dieselben Reagentien in sehr starker Verdünnung an, so tödten sie die Wand der Vacuole nur allmählig und gestatten ihr dadurch häufig, zu platzen und zusammenzuschrumpfen.

Langsam sterbende Protoplaste erstarren allmählig und verlieren dabei, wenn sie anfangs plasmolytisch contrahirt waren, das Vermögen, sich nachher wieder auszudehnen. Dasselbe gilt von der isolirten Vacuolenwandung, deren langsames Erstarren oft Tage lang dauert.

Auch nach dem Tode bekunden diese Wände noch in mehreren Punkten ihre Uebereinstimmung mit der Hautschicht. Beide sind, falls sie ohne Contraction erstarrt sind, im Allgemeinen hyalin und verhalten sich oft ziemlich indifferent gegenüber Färbemitteln.

III.

Ueber die Permeabilität [1]) der Vacuolenwandung.

Einleitung.

Eine der wichtigsten Eigenschaften der Vacuolenwandung ist ohne Zweifel der bedeutende Widerstand, den sie dem Durchgang gelöster Stoffe auf dem Wege der Diffusion entgegensetzt.

Für die Farbstoffe des Zellsaftes ist diese Eigenschaft durch Nägeli's schöne Untersuchungen jedem bekannt. Sie ist ferner in allen denjenigen Fällen unverkennbar, wo im Zellsaft Stoffe angehäuft sind, welche dem Leben des Protoplasma schädlich sind. Denn dass solche ohne Störung dieses Lebens im Zellsaft in oft bedeutender Menge enthalten sind, beweist ohne Weiteres, dass sie aus diesem nicht entweichen können. Es gilt dieses von den verschiedenartigsten im Zellsaft gelösten Pflanzengiften, von den Pflanzensäuren u. s. w. Wählen wir als Beispiel die letzteren. Nach der herrschenden Ansicht besitzt lebendes Protoplasma im Allgemeinen eine neutrale oder sogar eine schwach alkalische Reaction; der Zellsaft reagirt aber sauer; die Wand der Vacuole muss also für die Säure impermeabel sein. Stärkere Säuren vernichten den Chlorophyllfarbstoff, indem sie ihn in eine bräunlich-gelbe Substanz verwandeln; manche Zellsäfte besitzen aber eine hinreichende Menge Säure, um dieses sofort zu bewirken, wenn die Säure nur die Chlorophyllkörper erreichen kann. Man braucht nur ihre Blätter in kochendes Wasser zu tauchen und dadurch ihre Zellen zu tödten, um augenblicklich den genannten Farbenwechsel eintreten zu sehen (z. B. *Begonia*). Im lebenden Zustande verhindert also hier die Wand der Vacuole den Zutritt des sauren Zell-

---

1) Wo hier und sonst in diesem Aufsatz von Permeabilität oder Impermeabilität der Protoplaste oder Vacuolenwände die Rede ist, beziehen sich diese Bezeichnungen auf mikroskopisch-nachweisbare Eigenschaften. Impermeabilität bedeutet also einen auf diesem Wege nicht nachweisbaren Grad von Permeabilität. Ueber die Art der Aufnahme der Nährstoffe seitens der Protoplaste wissen wir so gut wie Nichts. Dass die Anhäufung mancher Stoffe im Zellsaft nicht, wie man bisher annahm, auf Diffusion beruht, geht ohne Weiteres daraus hervor, dass sie gar häufig aus einer verdünnteren zu einer concentrirteren Lösung übergehen. Das Gesetz von der Erhaltung der Kraft fordert dabei Kraftaufwand, und dieser kann nur durch die Lebensthätigkeit des Protoplasma geboten werden. Ich behalte mir vor, auf diesen Punkt in einem anderen Aufsatz zurückzukommen.

saftes zu den übrigen Theilen der Protoplaste. Die Säure in den Zellsäften von verschiedenen Arten der Gattung *Begonia* ist Oxalsäure, welche zum Theil frei, zum Theil als saures oxalsaures Kalium darin vorkommt; die Acidität des Saftes ist häufig eine äusserst erhebliche, indem sie nicht selten 0,1 Aeq., also die Stärke der üblichen Titrirflüssigkeiten, übertrifft. Es darf offenbar auch nicht ein relativ kleiner Theil dieses im Zellsaft aufgespeicherten Vorrathes sich im Protoplasma verbreiten; es muss die Wand der Vacuole also für diesen so sehr diffusiblen Körper in sehr hohem Grade impermeabel sein.

Die im vorigen Abschnitt beschriebenen Versuche haben bewiesen, dass die Wand der Vacuolen, von dem Augenblicke, wo sie durch den Tod des übrigen Protoplasma isolirt wird, allmählig gewisse Veränderungen erleidet. Sie verliert langsam und stufenweise die Eigenschaften, welche für sie im lebenskräftigen Zustand, im normalen Verbande charakteristisch waren, um schliesslich continuirlich in den völlig erstarrten Zustand überzugehen. Die isolirten Vacuolen bilden also kein sehr geeignetes Material, um Versuche über die Impermeabilität der normalen Vacuolenwand für gelöste Stoffe anzustellen. Dennoch werden wir in § 2 einen Versuch beschreiben, aus welchem hervorgeht, dass wenigstens bei der Prüfung mit den bis jetzt verfügbaren Mitteln diese Wände sich nach dem Tode des übrigen Plasma anfangs selbst für sehr leicht diffusible Salze impermeabel verhalten.

Dagegen liefern die isolirten Vacuolen ein ausgezeichnetes Material für die experimentelle Behandlung einer Frage, welche bis jetzt mit den unversehrten Protoplasten nicht in Angriff genommen werden konnte. Nach der herrschenden Ansicht ist der lebendige Schlauch (der ganze, wandständige Protoplast) für gelöste Stoffe impermeabel, während er solche im todten Zustande leicht durch sich hindurchgehen lässt. Welche die Ursache des Widerstandmangels im letzteren Falle ist, weiss man nicht. Die bisherigen Erfahrungen lassen es unentschieden, ob die Erscheinung auf das Entstehen von Rissen oder auf eine molekulare Veränderung der Grundsubstanz selbst beruht. Die Risse können ja, z. B. in momentan erstarrten (isolirten) Protoplasten, äusserst zahlreich und dagegen so fein sein, dass sie sich der mikroskopischen Beobachtung entziehen, was zumal dort, wo das Protoplasma reicht an Körnern ist, äusserst leicht der Fall sein könnte. Und da der Schlauch jetzt starr ist und somit eine plasmolytische

Contraction durch wasserentziehende Mittel nicht mehr erfahren kann, so ist es nicht möglich, durch osmotische Versuche sich von dem Vorhandensein oder dem Fehlen von Rissen zu überzeugen. Dazu kommt noch, dass die Erfahrungen und Ausführungen des § 5 des vorigen Abschnittes uns gelehrt haben, dass die Entstehung von Rissen im Schlauche wie in den isolirten Vacuolenwänden beim langsamen Tode eine ganz gewöhnliche Erscheinung ist.

Wir wissen also nicht, ob die molecularen Veränderungen, welche die lebende Substanz beim Tode erleidet, eine Zunahme der Permeabilität bedingen. Nur das Aufspeichern von Farbstoffen nach dem Tode liesse darauf schliessen, doch ist dieses keineswegs eine allgemeine Erscheinung (vergl. Abschnitt II, § 3).

Wir wissen ebenso wenig, ob die Permeabilität, falls sie in einer molecularen Veränderung der Substanz selbst ihre Ursache hat, beim Sterben nothwendigerweise plötzlich eintritt, oder ob sie beim langsamen Tode auch selbst sich langsam entwickeln, also langsam zunehmen kann.

Der allmählige Uebergang der Vacuolenwände aus dem lebenden in den todten Zustand, wie wir ihn im vorigen Abschnitt geschildert haben, bietet nun ein vortreffliches Mittel, um diesen Fragen auf experimentellem Wege näher zu treten. Denn durch einfach osmotische Versuche lässt sich hier feststellen, ob diese Organe langsam oder plötzlich für gelöste Stoffe permeabel werden. Und damit ist gleichzeitig ein Mittel gegeben, um zu entscheiden, ob das Zunehmen der Permeabilität durch die Entstehung von Rissen oder durch eine moleculare Veränderung verursacht wird. Wäre ersteres der Fall, so würde die Permeabilität plötzlich und für Stoffe von verschiedener Diffusionsfähigkeit gleichzeitig eintreten und sie würde von einem völligen Verluste der osmotischen Spannung begleitet sein. Meine Versuche werden aber lehren, dass die Permeabilität nur langsam eintritt und die Wand zuerst nur für leicht diffundirende und erst viel später für schwerer diffundirende Körper, zu allerletzt für Farbstoffe wegsam macht und dass ganz bedeutende Mengen von Salzen und Säuren durch die Wand in den Zellsaft übergeführt werden können, ohne dass gleichzeitig ihre osmotische Spannung erlischt. Ja die Veränderungen der osmotischen Spannung werden uns gerade das beste Mittel zum Nachweise der allmähligen Zunahme der Permeabilität abgeben.

Ein solches langsames Zunehmen der Permeabilität nach dem

Isoliren der Vacuolenwände bildet auch eine wichtige Stütze für den Satz, dass im normalen Verbande ihre Permeabilität jedenfalls eine äusserst geringe war.

Die obigen Betrachtungen veranlassen mich, die Erscheinung der allmähligen Zunahme der Permeabilität der isolirten Vacuolenwandung in diesem Abschnitte einem eingehenden Studium zu unterwerfen. Ich hatte mit diesem Studium aber auch noch einen anderen Zweck, wie bereits in der Einleitung zum ersten Abschnitt kurz bemerkt wurde [1]). Denn bei der Ermittelung der isotonischen Coëfficienten und bei der Analyse der Turgorkraft kam es mir darauf an, die Erscheinungen jeder Art von abnormaler Plasmolyse genau zu kennen, um dadurch eine der gefährlichsten Fehlerquellen bei jenen quantitativen Versuchen stets mit voller Sicherheit vermeiden zu können. Die zunehmende Permeabilität der Vacuolenwände ist aber fast stets Ursache abnormaler plasmolytischer Erscheinungen, wie man im Folgenden vielfach sehen wird.

Dementsprechend wurden die jetzt zu beschreibenden Versuche, mit wenigen Ausnahmen, vor meiner Untersuchung über die Analyse der Turgorkraft [2]) angestellt, und dasselbe gilt von den im Anhang mitgetheilten Versuchsreihen.

Im nächsten Paragraphen werde ich die Methode zur Beurtheilung der Permeabilität der Vacuolenwände für leicht diffusible Salze beschreiben und an einem Beispiele illustriren. Ich wähle dazu einen Fall, wo die Permeabilität durch die Wirkung eines Giftes (einer Säure) künstlich erhöht wurde, um durch ein klares, positives Resultat die Methode bequem erörtern zu können.

Die beiden folgenden Paragraphen behandeln die allmählige Zunahme der Permeabilität der isolirten Vacuolenwände, wie sie theils auf die Dauer von selbst eintritt (§ 2) oder durch Gifte beschleunigt werden kann (§ 3).

In § 4 bespreche ich dann die eigenthümlichen Folgen, welche diese Zunahme in plasmolytischen Reagentien von geringem Diffusionsvermögen und namentlich in Zuckerlösungen bedingt, um endlich in § 5 die Ergebnisse dieses und des hervorgehenden Abschnittes anzuwenden zur Begründung einer verbesserten Methode, um im Zellsaft gelöste Stoffe mikrochemisch nachzuweisen.

---

1) Vergl. S. 325.
2) *Opera II,* S. 137.

§ 1. Die Beurtheilung der Permeabilität des Protoplasma nach der plasmolytischen Methode.

Wo das Protoplasma einen dünnen wandständigen vom Zellsaft erfüllten Schlauch bildet, beruhen die Erscheinungen der Plasmolyse so gut wie ausschliesslich auf Veränderungen in der Gleichgewichtslage zwischen der osmotischen Kraft des Zellsaftes und der wasserentziehenden Wirkung der umgebenden Lösung. Die Veränderungen des Wassergehaltes im Protoplasma können dabei, wenigstens bei dem jetzigen Zustand unserer Erfahrungen, ausser Acht gelassen werden und auch die elastische Spannung des Schlauches kann auf unsere Betrachtungen über jene Gleichgewichtslage noch keinen merklichen Einfluss ausüben. Es handelt sich zunächst nur um die Vergleichung der osmotischen Kräfte der inneren und äusseren Flüssigkeit, und so lange es gewiss ist, dass das Protoplasma nur Wasser, aber keine der darin gelösten Stoffe in merklicher Menge durchlässt, kann man aus dem bekannten Werth der einen, auf die Grösse der anderen Kraft schliessen. Die Ermittelung der isotonischen Coëfficienten und die Bestimmung der absoluten Grösse der Turgorkraft der Zellsäfte beruht bekanntlich auf diesem Prinzip.

Sobald aber das wandständige Protoplasma durch irgend eine Ursache seine Impermeabilität verliert, oder es auch nur fraglich wird, ob solches vielleicht der Fall ist, tritt die Durchlässigkeit des Schlauches als unbekannter Faktor in die Gleichung ein, und eine einfache Schlussfolgerung aus der osmotischen Kraft der einen Lösung auf die Grösse der gleichnamigen Kraft der anderen ist nun nicht mehr gestattet. Dagegen können wir nun aber die Vergleichung der Erscheinungen, welche der gesunde und der krankhafte Schlauch in aus demselben Gewebe stammenden Zellen unter dem Einfluss derselben künstlichen Lösung darbieten, dazu verwerthen, um uns über dessen Fähigkeit, gelöste Stoffe durch sich hindurchgehen zu lassen, ein Urtheil zu bilden.

Auf drei verschiedenen Wegen lässt sich nach diesem Prinzip die plasmolytische Methode zur Beurtheilung der Diffusionseigenschaften des Protoplasma benutzen. Den einfachsten dieser Wege wollen wir in diesem und den beiden nächsten Paragraphen behandeln, die Betretung der beiden anderen uns aber auf den vierten Paragraphen dieses Abschnittes und auf den Anhang versparen.

Jener erste Weg besteht der Hauptsache nach darin, dass man

das Protoplasma in irgend einer an sich unschädlichen Lösung zur Contraction bringt, und nun, nachdem der Gleichgewichtszustand eingetreten ist, dasselbe jenen Einflüssen aussetzt, von denen man erfahren will, ob sie seine Permeabilität erhöhen. Und zwar habe ich die Frage hier so zugespitzt, dass es sich darum handelt, zu entscheiden, ob der Schlauch das in jedem einzelnen Versuch gerade angewandte plasmolytische Reagens durchgehen und also in den Zellsaft übertreten lassen wird oder nicht.

Handelt es sich um Säuren oder Basen, so bieten Zellen mit gefärbtem Zellsaft ein einfaches Mittel, den Durchgang dieser Körper nachzuweisen, da erstere ihren Saft im Allgemeinen roth, die letzteren ihn aber blau färben. Ein hübsches Beispiel dazu liefern die violetten Oberhautzellen von *Tradescantia discolor*. Da aber bekanntlich bereits sehr geringe Mengen von Säure und Basis den Farbenübergang bewirken, grössere Mengen aber durch die Farbe nicht weiter angewiesen werden, so beschränkt sich diese Methode auf den Nachweis des Ueberganges sehr geringer Substanzmengen dieser an sich giftigen Verbindungen und eignet sie sich also für ein eingehenderes Studium nicht.

Ich habe daher statt des Farbenwechsels ein anderes Merkmal zur Beurtheilung der fraglichen Eigenschaft benutzt, welches es gestattete, den Durchgang auch von neutralen Verbindungen und in viel grösseren Mengen nachzuweisen. Es war dieses das Eintreten oder Ausbleiben einer nachträglichen Ausdehnung der Protoplaste nach der Plasmolyse innerhalb derselben Lösung und somit ohne eine Verdünnung dieser letzteren. Diese Methode lässt sich zur Beurtheilung der Wirkung der verschiedensten Gifte auf die Permeabilität benutzen, als Gifte habe ich aber vorwiegend Säuren angewandt. Es ist diese Methode dieselbe, der ich mich bereits vor vielen Jahren bedient habe, um die Durchlässigkeit lebender Protoplaste für gelöste Stoffe zu prüfen. Dazu wandte ich damals das Prinzip an, dass in Zellen, welche durch künstliche Lösungen plasmolytisch gemacht worden sind, dieser Zustand innerhalb der betreffenden Lösungen nur dann rückgängig werden kann, wenn die gelösten Stoffe durch den Protoplasten hindurch in den Zellsaft dringen [1]). Dementsprechend trat in meinen damaligen Versuchen mit neutralen Lösungen durchaus keine nachträgliche Ausdehnung der plasmolysirten Protoplaste ein, da solche Lösungen in kurzen Zeiten nicht in merklicher Menge

1) *Opera I*, S. 86. Vgl. auch Pfeffer, Physiologie I, S. 43.

durch das lebendige Protoplasma hindurchgehen. Als ich aber diese Versuche mit einer stark sauren Flüssigkeit wiederholte, erhielt ich ein ganz anderes Resultat [1]). Es dienten dazu die rothen Zellen, welche in der Nachtbarschaft der Schuppen in den Blattstielen von *Begonia manicata* gefunden werden, sowie die gefärbten Oberhautzellen des Blüthenstieles von *Cypripedium insigne*. Als ich auf diese Zellen eine starke Schwefelsäurelösung einwirken liess, wurden sie in wenigen Minuten in hohem Grade plasmolysirt. Bald darauf fingen die Protoplaste an sich auszudehnen; sie erreichten aber die ursprüngliche Grösse nicht wieder, da sie während dieser Vergrösserung unter der Einwirkung der Säure starben. Offenbar war ein Theil der Säure in den Zellsaft übergetreten, und hatte dadurch dessen osmotische Kraft erhöht und ihm das Vermögen ertheilt, sich in derselben Flüssigkeit zu vergrössern, welche ihm noch vor wenigen Minuten Wasser entzogen hatte. Der Uebergang von Säure in den Zellsaft war übrigens auch an der Veränderung des Farbentones direct wahrnehmbar.

Es geht aus diesen Versuchen klar hervor, dass die Erscheinung in einer giftigen Lösung eine ganz andere ist, als wie in einer unschädlichen, und dass die nachträgliche Ausdehnung eines plasmolysirten Protoplasten, ohne Verdünnung der äusseren Flüssigkeit, den Beweis liefert, dass wenigstens ein Theil des angewandten Reagens in die Vacuole übergetreten ist.

Hierauf beruht nun meine Methode, um die Zunahme der Permeabilität der Vacuolenwände nach dem Tode des übrigen Protoplasma nachzuweisen. Ich werde sie zunächst an einem Beispiel erläutern und wähle dazu den auf Taf. III, Fig. 1 A—D abgebildeten Fall. Es fragte sich, zu entscheiden, ob Salpetersäure das Protoplasma für Kalisalpeter merklich permeabel macht.

Als Material benutzte ich die Zellen der unterseitigen Oberhaut der Blätter von *Tradescantia discolor*, und brachte die Präparate in eine Salpeterlösung von 4 pCt. in einem etwa 10 CC. dieser Flüssigkeit enthaltenden Cylinderglase. Nach etwa einer Stunde waren darin sämmtliche Zellen so stark plasmolysirt, dass das Protoplasma mit den violetten Vacuolen auf weniger als die Hälfte des Zellraumes reducirt war. Hautschicht und Kern waren noch lebendig, und in einigen Schnitten, welche ich zur Controle mehrere Stunden in der Flüssigkeit verweilen liess, änderte sich der

---

1) *Opera I*, S. 124.

Grad der Plasmolyse nicht merklich. Nach jener ersten Stunde brachte ich ein Präparat unter Deckglas unter das Mikroskop und wählte an seinem Rande die in Fig. 1 A auf Taf. III abgebildete Zelle zu dem Versuch aus. Der Protoplast nimmt den oberen, die eingedrungene Salpeterlösung den unteren Theil des Zellraumes in der Figur ein. Als die Zeichnung fertig war, liess ich unter dem Deckglas eine gleich starke Salpeterlösung (4 pCt.), welche ausserdem noch 0,1 Aeq. Salpetersäure enthielt, zufliessen, und beförderte das Eindringen mittelst Fliesspapier in der üblichen Weise. Es geschah dieses, als die Zelle im Ganzen 1½ Stunden in der neutralen Lösung gelegen hatte. Sobald die Säure eindrang, sah ich die Farbe des Zellsaftes sich in Roth verwandeln und den Kern trübe werden und zusammenschrumpfen. Das äussere Protoplasma war somit gestorben, die Wand der Vacuole liess den rothen Farbstoff aber nicht entweichen. Fast zu gleicher Zeit fing die Vacuole an, anzuschwellen, die vorher schwach concave Grenzlinie zwischen ihr und der eingedrungenen Lösung wurde erst gerade, dann convex, und nach vier Minuten war der in Fig. 1 B dargestellte Zustand erreicht. Unter meinen Augen dehnte sich die Vacuole nun weiter aus; ihre Grösse nach 6, 7, 11 und 18 Minuten ist durch punktirte Linien angegeben. Inzwischen platzten in den umliegenden Zellen die sich dort gleichfalls ausdehnenden Blasen und entliessen dadurch ihren Farbstoff, der nun vom Zellkern unserer Zelle aufgespeichert wurde (Fig. 1 C). Nach 20 Minuten war die in Fig. 1 C abgebildete Grösse der Vacuole erreicht, ihre Wand war jetzt noch völlig glatt und gespannt und liess keinen Farbstoff durch; der von ihr nicht erfüllte Raum der Zelle war völlig farblos. Darauf platzte die Blase, stiess ihren Inhalt aus und schrumpfte stark zusammen, nach fünf Minuten war aller Farbstoff, mit Ausnahme des im Kern angehäuften, verschwunden und der in Fig. 1 D dargestellte Zustand eingetreten.

Wenden wir uns jetzt zu einer Prüfung der Beweiskraft dieses Versuches, so ist in erster Linie hervorzuheben, dass die osmotische Kraft der äusseren Lösung nicht vermindert, im Gegentheil durch den Zusatz der Säure etwas grösser geworden war. Wenn nun dessen ungeachtet der durch die Säure veränderte Schlauch sich in verhältnissmässig kurzer Zeit ganz bedeutend ausdehnte, so kann dieses offenbar nur darauf beruhen, dass die osmotische Kraft des Zellsaftes entsprechend zugenommen hatte. Dieses kann aber nur dadurch bewirkt werden, dass ein Theil der Säure und des Salzes durch die Wand der Vacuole hin diffundirte, und zwar

ein so grosser Theil, dass nun die Summe der osmotischen Kräfte der eingedrungenen Stoffe und der ursprünglichen Verbindungen des Zellsaftes grösser wurde als die osmotische Kraft der äusseren Lösung.

Ein Uebergang der Säure allein könnte dieses nicht bewirken, denn es konnte sich die Säure im Zellsaft höchstens bis zu derselben Concentration anhäufen, in der sie der äusseren Flüssigkeit zugesetzt worden war; die im Zellsaft aufgenommene Säure konnte also höchstens mit der Säure der äusseren Lösung osmotisches Gleichgewicht machen. Damit wäre aber noch keine Ursache für eine Ausdehnung gegeben, weil ja vor dem Zusatze der Säure zwischen der inneren und der äusseren Flüssigkeit osmotisches Gleichgewicht herrschte.

Es bleibt somit nichts übrig als anzunehmen, dass auch ein Theil des Salzes in den Zellsaft eindrang und dass dieses die Ausdehnung der Blase bewirkte. Und da nun der in Fig. 1 C abgebildete Grad der Plasmolyse, ohne Mitwirkung von Säure, durch eine Salpeterlösung von etwas weniger als 2 pCt. erreicht zu werden pflegt, so muss offenbar in unserer Zelle soviel Salpeter in den Zellsaft übergegangen sein, dass die Differenz seines Gehaltes an diesem Salze gegenüber der äusseren Lösung nur noch etwa 2 pCt. betrug. Da aber die äussere Lösung 4 pCt. enthielt, so muss sich der Salpeter im Zellsaft in jenen zwanzig Minuten zu mindestens 2 pCt. angehäuft haben. Und da die in der neutralen Lösung gebliebenen Schnitte in mehreren Stunden keine Spur von Ausdehnung ihrer Protoplaste und also auch keine merkliche Aufnahme von Salpeter verriethen, so muss durch die Säure die Permeabilität des Schlauches für das Salz in ganz wesentlicher Weise erhöht worden sein.

Nach dieser Auseinandersetzung ist es nun deutlich, dass eine nachträgliche Ausdehnung der Protoplaste im plasmolytischen Zustand als ein Beweis für ihre Permeabilität für die angewandte Lösung betrachtet werden darf, während aus dem Ausbleiben einer solchen Ausdehnung folgt, dass eine merkliche Permeabilität für jene Lösung nicht besteht. Es kommt also jedesmal nur darauf an, zu entscheiden, ob in einer gegebenen Lösung eine solche Ausdehnung durch bestimmte Gifte bewirkt werden kann oder nicht.

Soviel über das Princip. Ueber die Anwendung der Methode möchte ich im Einzelnen noch Folgendes hervorheben.

In der Regel habe ich die Ausdehnung nicht an einzelnen Zellen, welche während der Beobachtung unter dem Mikroskop liegen

blieben, sondern an grösseren Präparaten, welche je mehrere Hunderte von Zellen enthielten, verfolgt. Wenn die sämmtlichen Zellen des Präparates im Grade ihrer Plasmolyse gleichen oder doch nahezu gleichen Schritt halten, hat diese Methode ganz wesentliche Vortheile, da sie es erlaubt, die Ausdehnung langsamer vor sich gehen zu lassen und dadurch die Gefahr des Platzens wesentlich zu vermindern und eine ganze Reihe von Versuchen gleichzeitig vorzunehmen.

In der Wahl der Objecte ist man dabei freilich beschränkt und ich habe, ausser den erwähnten Oberhautzellen der *Tradescantia discolor*, nur noch die rothen Oberhautzellen der Blattscheide von *Curcuma rubricaulis* und die rothen Parenchymzellen der Blattstiele einer dunkelrothen Form von *Begonia Rex* benutzt. Dass die Zellsäfte dieser Zellen gefärbt sind, erleichtert die Beobachtung des Grades der Plasmolyse, auch bei schwacher Vergrösserung, ungemein.

In die mittleren Theile der Präparate dringt die Lösung träger ein als am Rande, die Erscheinungen sind hier somit langsamer. Die Ausdehnung dauerte in meinen Versuchen gewöhnlich mehrere Stunden, bevor eine solche Anzahl von Protoplasten platzten, dass der Versuch beendet werden musste. Während dieser Zeit verweilten die Präparate in kleinen Cylindergläschen in etwa 5—10 CC des Reagens und wurden nur von Zeit zu Zeit in einem Tropfen dieser Lösung unter das Mikroskop gebracht. Das ansehnliche Volumen der Flüssigkeit hatte zur Folge, dass ihre Concentration durch das Eindringen des Salzes in die Präparate sich nicht nennenswerth verändern konnte.

Als Resultat jedes einzelnen Versuches bekommt man also eine Reihe von Angaben über den Grad der Plasmolyse in den sämmtlichen, stets mehrere Hunderte umfassenden Zellen desselben Präparates zu verschiedenen Zeiten. Um diese Angaben in bequemer und übersichtlicher Form ausdrücken zu können, habe ich stets die Grösse der Protoplaste mit der des Zellraumes verglichen und mich darauf beschränkt, in dieser Beziehung vier Hauptstufen zu unterscheiden. Ich entschied nach dem Augenmaass, was bei einiger Uebung in der überwiegenden Zahl der Fälle nicht schwer war, ob die Protoplaste ein Viertel, die Hälfte oder drei Viertel des Zellenraumes erfüllten und deutete diese Fälle mit den Ziffern 1—3 an, während die Zahl 4 angab, dass der Protoplast den ganzen verfügbaren Raum einnahm. Dadurch konnten die Resul-

tate in tabellarischer Form zusammengefasst werden; es bedeutet somit in den Tabellen:

1......Der Protoplast erfüllt ungefähr Ein Viertel oder weniger der Zelle.

2......Der Protoplast erfüllt ungefähr die Hälfte (zwei Viertel) der Zelle.

3......Der Protoplast erfüllt etwa drei Viertel der Zelle oder mehr, aber nicht den ganzen Innenraum.

4......Keine Plasmolyse (vier Viertel erfüllt).

In den meisten Versuchen war die Plasmolyse in allen Zellen der betreffenden Präparate (also stets in mehreren Hunderten von Zellen) so gleichmässig, dass der Grad durch Eine einzige Zahl angegeben werden konnte. In anderen aber war die Plasmolyse in verschiedenen Zellen in verschiedenem Maasse ausgebildet, und es wurden deshalb für das betreffende Präparat zwei Zahlen eingeschrieben. Es bedeutet z. B.1,2 , dass etwa die Hälfte der Zellen in sehr starkem Maasse plasmolytisch waren (1), dass die Protoplaste der anderen Hälfte sich aber nur zur Hälfte contrahirt hatten (2). Die Vergleichung der Grösse der Protoplaste mit der der Zellen bezieht sich selbstverständlich nicht auf das Volumen, sondern nur auf den Umfang der mikroskopischen Bilder.

Die Methode der nachträglichen Ausdehnung plasmolysirter Protoplaste lässt sich zwar zur Erforschung der Wirkung der verschiedensten Gifte, nicht aber zur Prüfung der Permeabilität der Protoplaste für jede beliebige in Wasser lösliche Verbindung anwenden. Denn sie fordert offenbar, dass, während das Reagens in den Zellsaft eindringt, nicht gleichzeitig die osmotischen Stoffe, welche diesem seine Turgorkraft verleihen, hinaus diffundiren. Es geht daraus hervor, dass sie wohl für Stoffe, welche rascher diffundiren als die Bestandtheile des betreffenden Zellsaftes, nicht aber für träger diffundirende Substanzen brauchbar ist. Mit Salpeter, Kochsalz und ähnliche Salze gab sie stets unzweifelhafte Erfolge, in Rohr- und Traubenzuckerlösungen [1]) beobachtete ich aber nie eine nachträgliche Ausdehnung.

Am Schlusse dieses Paragraphen möchte ich noch einen merkwürdigen Fall beschreiben, in welchem statt einer gleichmässigen Ausdehnung der Vacuolenwände, wie sie oben beschrieben und in Fig. 1 auf Taf. III dargestellt wurde, an verschiedenen Stellen des Schlauches lokale Ausstülpungen auftraten. Diesen als Aus-

1) Vergl. über deren Wirkung § 4 dieses Abschnittes.

nahme zu betrachtenden Fall habe ich auf Taf. III in Fig. 6 abgebildet und am schönsten in folgendem Versuch beobachtet (vergl. S. 355).

Ein Präparat der violetten Blattoberhaut von *Tradescantia discolor* hatte eine Stunde in einer neutralen, 0,5 Aeq. starken Lösung von Chlorcalcium verweilt und sämmtliche Protoplaste hatten sich hier bis zu einer Grösse von weniger als die Hälfte des Zellenraumes contrahirt. Jetzt kam es in eine Lösung, welche gleichfalls 0,5 Aeq. Chlorcalcium, dazu aber noch 0,1 Aeq. Salzsäure enthielt. Bald drang die Säure in den Zellsaft ein und veränderte dessen violette Farbe in eine rothe. Dann fand aber nicht, wie es sonst in solchen Fällen gewöhnlich geschieht, eine gleichmässige Ausdehnung der Protoplaste statt, wobei diese die Kugelform behielten oder falls sie diese nicht bereits hatten, sie anstrebten, bis sie sich an die Zellhaut andrückten, sondern es änderte sich die Gesammtform und die Grösse der Protoplaste anfangs nicht. Nach drei Stunden zeigte sich aber bereits die namhaft gemachte Veränderung, während die äusseren Schichten und die Kerne gestorben und dabei körnig und braun geworden waren und nur die Wand der Vacuolen noch gespannt geblieben war und den Durchgang des gefärbten Zellsaftes verhinderte. An mehreren Stellen war die Wand der Vacuole nach aussen gestülpt und diese Ausstülpungen zu grösseren oder kleineren Kugeln angeschwollen, deren Haut vollkommen glatt und gespannt, dabei hyalin und ganz oder doch zum grossen Theile frei von den todten Ueberresten des äusseren Plasma war. Der Inhalt dieser Ausstülpungen war meist nur durch eine enge Oeffnung in Verbindung mit dem übrigen Zellsaft und wie dieser unter dem Einfluss der Säure roth gefärbt. Sämmtliche Zellen der Präparates (mehrere Hunderte) zeigten dieselbe Erscheinung; die Anzahl der Ausstülpungen an einem Protoplasten wechselte meist zwischen 1 und 4, ebenso wechselte ihre Form und die Grösse ihrer Verbindungsfläche mit dem übrigen Protoplasma. In einzelnen Zellen wurden die Ausstülpungen vom übrigen Protoplasma abgeschnürt und lagen dann frei als rothe Kugeln im Zellraum; diese fand ich häufig noch lebendig, als die Wand der ursprünglichen Vacuole bereits todt und ihr Inhalt entfärbt war. Die grössten Ausstülpungen erreichten nicht ganz die Grösse des contrahirten Plasmakörpers, aus dem sie entstanden waren.

Noch sechs Stunden später, also nach neunstündiger Einwirkung der Säure, hatten in den meisten Zellen die Vacuolen selbst

sich derart ausgedehnt, dass die scharfe Trennung der soeben beschriebenen Ausstülpungen sich ausgeglichen hatte und diese nur noch in einigen Zellen zu erkennen waren. Nach 24 Stunden waren in dieser Weise fast sämmtliche Ausstülpungen verschwunden, wodurch die abgeschnürten, welche auch jetzt noch frei neben ihren Protoplasten lagen, mehr hervortraten. Nach drei Tagen fand ich noch mehrere solche abgeschnürte Plasmatheile lebendig, ja nach sechs Tagen, als sonst alle Vacuolen bereits gestorben waren, fand ich von diesen abgeschnürten Ausstülpungen noch einige vor, doch war ihre Farbe bereits merklich blasser geworden.

Dieselbe Erscheinung beobachtete ich auch bei *Tradescantia discolor* in einer Chlornatriumlösung von 0,4 Aeq., welche 0,5 Aeq. kohlensaures Kali enthielt. Unter vielen hunderten Versuchen, in denen ich gleichmässige Anschwellung der Vacuolen nach erfolgter Plasmolyse beobachtete, bildeten diese beiden Fälle aber seltene Ausnahmen.

Die Erklärung dieser Erscheinung muss offenbar darin gesucht werden, dass das äussere todte Protoplasma der Vacuolenwandung derart anhaftete, dass diese nur an einzelnen Stellen, vielleicht durch Risse der erstarrten Hautschicht hindurch, sich ausdehnen konnte.

§ 2. Die Permeabilität der Vacuolenwandung nimmt nach dem Isoliren allmählig zu.

Wir wollen jetzt die im vorigen Paragraphen beschriebene Methode benutzen, um zu untersuchen, ob mit ihrer Hülfe gleich nach dem Isoliren eine Permeabilität der Vacuolenwände nachgewiesen werden kann, um darin einerseits einen Ausgangspunkt für das Studium der allmähligen Zunahme dieser Permeabilität während des langsamen Sterbens zu finden, andererseits dieses Studium möglichst direct an die in der Einleitung gegebene Erörterung über die Impermeabilität der Vacuolenwände in ihrem normalen Verbande mit dem übrigen Protoplasma anzuschliessen.

Es kommt also darauf an, zu erfahren, ob die mit unserer zehnprocentigen Salpeterlösung isolirten Vacuolenwände, ohne Anwendung sonstiger schädlicher Reagentien, für ein leicht diffusibles Salz in den ersten Stunden nach dem Anfange der Wirkung jenes Salzes merklich permeabel sind. Und es liegt auf der Hand, den Salpeter selbst als Diffusionssalz zu wählen und also zu erforschen, ob die durch jene Lösung isolirten Wände der Vacuolen für sie selbst merklich permeabel sind oder nicht.

Zur Beantwortung dieser Frage benutzte ich die bereits mehrfach erwähnten violetten Oberhautzellen der *Tradescantia discolor*, und behandelte diese mit der zehnprocentigen Salpeterlösung. Der Erfolg einer solchen Behandlung wurde auf S. 333 beschrieben und auf Taf. II in Fig. 6 abgebildet. Die Zellen werden plasmolysirt, ihr Inhalt contrahirt sich bis auf weniger als Ein Viertel des Zellenraumes. Gleichzeitig stirbt das äussere Protoplasma mit dem Zellkern und nur die Wand der Vacuole bleibt zunächst lebendig. Ich überzeugte mich nun nach etwa einstündigem Aufenthalt in der Lösung, mittelst Eosin, dass in allen Zellen, in denen sich der Zellkern und das äussere Protoplasma beobachten liessen, diese Theile gestorben waren. Nachdem das Eosin grösstentheils entfernt war, blieben die Präparate in der zehnprocentigen Salpeterlösung, von der sich etwa 10 CC in einem Cylindergläschen befanden. Wären die isolirten Wände der Vacuolen für das Salz permeabel, so müssten sie sich jetzt allmählig ausdehnen, dieses geschah aber nicht; nach acht Stunden war ihre Grösse nicht merklich zugenommen. Einige Präparate, welche nicht mit Eosin behandelt worden waren, liess ich während 24 Stunden in der genannten Salzlösung liegen, auch nach dieser Frist waren ihre Vacuolen nicht sichtbar grösser geworden als sie nach den ersten Stunden waren. Controlversuche lehrten, dass nach vierstündigem Aufenthalt in der zehnprocentigen Salpeterlösung die Protoplaste sich in wenigen Stunden zu grossen, die Zellen nahezu erfüllenden Kugeln ausdehnen können, wenn man die Salzlösung unter Deckglas langsam verdünnt, oder wenn man die Wand der Vacuole durch eine Säure permeabel für das Salz macht. Auf diese letztere Beobachtung komme ich aber im nächsten Paragraphen zurück.

Gleich nach dem Tode des äusseren Protoplasma sind die Wände der Vacuolen also nicht in merklicher Weise für den so leicht diffundirenden Salpeter permeabel. Dasselbe konnte ich mannigfach auch für die ringsherum vom äusseren Plasma befreiten Vacuolen der *Spirogyra nitida* constatiren, da ich auch in diesen bei stundenlangem Aufenthalt in jener Lösung niemals eine Zunahme ihrer Grösse beobachtete.

Lässt man die Präparate aber mehrere Tage in der Salzlösung, so werden die Wände ihrer Vacuolen schliesslich dennoch permeabel für leicht diffundirende Salze, wie aus den folgenden Versuchen hervorgeht.

Präparate der S. 400 genannten Gewebearten brachte ich in

Lösungen verschiedener, leicht diffundirender Salze, wo nach kürzerer oder längerer Zeit die Hautschicht und der Kern ihrer Zellen starben, während die Wand ihrer Vacuolen noch Tage lang für den Farbstoff des Zellsaftes undurchlässig und dabei mehr oder weniger dehnbar blieb. Die Concentration der Lösungen war so gewählt, dass die Zellen sämmtlich gleich anfangs plasmolysirt wurden. Die Präparate brachte ich behufs der Versuche in kleine Glascylinder von etwa 20 CC Inhalt, welche bis auf drei Viertel der Höhe mit den betreffenden Lösungen gefüllt und dann mit einem Stopfen verschlossen wurden. Sie wurden nach dreistündigem Aufenthalt in den Röhrchen und später täglich einmal mikroskopisch untersucht. Manche Präparate starben, ohne ein klares Resultat zu geben; in anderen Fällen war aber die nachträgliche Ausdehnung in der übergrossen Mehrzahl der Zellen deutlich und ohne Zweifel wahrnehmbar.

Die erhaltenen Resultate stelle ich in der folgenden Tabelle zusammen; die angewandten Salze waren Kalisalpeter, Chlorkalium und Chlornatrium; die Präparate theils erwachsenen, theils noch wachsenden Blättern entnommen. Die Grösse der Protoplaste ist, nach der S. 401 erläuterten Verfahrungsweise, in Vierteln des Zellenraumes angegeben; die Vacuolen behielten bis zum Ende ihren Farbstoff unvermindert. Die Präparate enthielten je mehrere Hunderte von Zellen.

Tabelle über die nachträgliche Ausdehnung plasmolysirter Protoplaste in Salzlösungen.

	Concentration der Salzlösung.	Grösse d. Protoplaste		Versuchsdauer in Tagen.
		nach 1—3 St.	am Ende	
Curcuma rubricaulis . . .	0,15 Aeq. KNO_3	3	4	4
No. II	0,15 Aeq. KCl	3	4	4
Tradescantia discolor. . .	0,15 Aeq. KCl	3	4	2
Dieselbe, jung No. II	0,15 Aeq. KNO_3	3	4	1
No. III	0,2 Aeq. KCl	3	4	2
No. IV	1 Aeq. NaCl	1,2	3,4	1
No. V	1 Aeq. KNO_3	1,2	3,4	1

In den drei erstgenannten Versuchen wurden ausgewachsene Blätter benutzt; zu den vier letzteren solche, welche noch nicht die halbe normale Länge erreicht hatten; ihre Zellen starben in

den Flüssigkeiten viel rascher als die der ausgewachsenen Organe, die Zunahme der Permeabilität ihrer Vacuolenwände war dafür auch eine viel bedeutendere.

Die Versuche beweisen die Zunahme der Permeabilität für Salzlösungen beim langsamen Tode ohne jeden Zusatz giftiger Substanzen.

Je geringer der Grad der Plasmolyse, um so rascher und sicherer wird diese offenbar beim langen Aufenthalt in den Lösungen verschwinden. Es können daher beim Aufsuchen der schwächsten noch gerade plasmolysirenden Concentration eines Salzes bedeutende Fehler gemacht werden, wenn man die Versuche statt einiger Stunden einen oder mehrere Tage lang dauern lässt. Die Wichtigkeit dieses Satzes veranlasst mich, hier einen Fall beispielsweise anzuführen. Ich habe zum Zweck anderer Versuche für die rothe Oberhaut der Blattscheide von *Curcuma rubricaulis* und für die violette Oberhaut des Mittelnerven der Blattunterseite von *Tradescantia discolor* die schwächste zur Plasmolyse erforderliche Concentration einer Kalisalpeterlösung ermittelt, indem ich Präparate, deren jedes mehrere Hunderte von Zellen enthielt, in Lösungen von 0,12—0,15 Aeq. (1,2 bis 1,5 pCt.) KNO_3 brachte und nach 2½ Stunden untersuchte, in welchen Lösungen Plasmolyse eingetreten war. Bei diesen Geweben ist diese Grenze für alle Zellen so genau dieselbe, dass sie bei einer Concentrationsdifferenz von 0,01 oder 0,02 Aeq. KNO_3 *alle* aus dem normalen in den plasmolytischen Zustand übergehen.

Wie auffallend scharf der Unterschied im Grade der Plasmolyse in den Präparaten dieses Gewebes ist, sieht man in den Fig. 3 A—C auf Taf. III. In Fig. 3 A sind zwei Zellen eines Präparates abgebildet, welches in einer Lösung von 0,12 Aeq. KNO_3 mehr als eine Stunde verweilt hatte, nirgends im ganzen Präparate war Plasmolyse eingetreten. In einer Lösung von 0,13 Aeq. KNO_3 hatten die Protoplaste sich stellenweise von der Zellhaut losgelöst, in dem Grade, wie die Fig. 3 B dieses vorstellt. Bei einem Gehalt der Flüssigkeit von 0,14 Aeq. KNO_3 waren endlich die Protoplaste viel stärker contrahirt und näherten sie sich bereits deutlich der Kugelform (Fig. 3 C).

Diese Schärfe ist es, welche die genannten Gewebe für die Ermittelung isotonischer Coëfficienten geeignet macht.

Die folgende Tabelle weist nun den Grad der Plasmolyse der betreffenden Präparate in den einzelnen Lösungen an, und zwar erstens nach 2½stündigem Aufenthalt und zweitens bei einer drei

Tage später vorgenommenen Beobachtung. Die Schnitte waren aus einem anderen Blatte genommen als jene, welche zu den Zeichnungen gedient hatten; die niedrigste zur Plasmolyse erforderliche Concentration der Salpeterlösung lag in ihnen um 0,01 Aeq. höher. Die Einzelheiten der Versuchsanordnung und die Bedeutung der Zahlen in der Tabelle ist dieselbe wie in dem zuletzt beschriebenen Versuche.

Tabelle über die Bestimmung der niedrigsten zur Plasmolyse erforderlichen Concentration einer Salpeterlösung bei verschiedener Versuchsdauer.

	Versuchs-dauer	Grad der Plasmolyse in Lösungen von			
		0,12 Aeq. KNO_3	0,13 Aeq. KNO_3	0,14 Aeq. KNO_3	0,15 Aeq. KNO_3
Curcuma rubricaulis . . .	2½ St.	4	4	3	3
Dieselben Präparate . .	3 Tage	4	4	4	3,4
Tradescantia discolor. . .	2½ St.	4	3	3	—
Dieselben Präparate . .	3 Tage	—	4	3	—

Die gesuchte Grenze ist also in drei Tagen für *Curcuma* von 0,135 Aeq. auf 0,15 Aeq. KNO_3 und für *Tradescantia* von 0,125 Aeq. auf 0,135 Aeq. KNO_3 verschoben. Die Ursache war die nachträgliche Ausdehnung der vorher plasmolysirten Protoplaste, welche grade oberhalb der Grenze die Plasmolyse selbstverständlich zum Verschwinden bringen musste, während sie sie bei stärkerer Contraction während der angegebenen Versuchsdauer noch nicht auszugleichen vermochte.

Vergleichende Bestimmungen dieser Art sind also offenbar nur bei wenigstündiger Versuchsdauer, nicht bei tagelangem Aufenthalt in der Lösung zulässig, und es ist dieses bei der Bestimmung der isotonischen Coëfficienten oder des Salpeterwerthes gegebener Lösungen stets zu berücksichtigen 1).

Nachdem wir uns also jetzt überzeugt haben, dass die Wand der Vacuole nach dem Isoliren anfangs so gut wie impermeabel ist, aber im Laufe einiger Tage allmählig für leicht diffundirende

1) Vergl. hierüber meinen Aufsatz: Eine Methode zur Analyse der Turgorkraft in *Opera II*, S. 137.

Salze durchlässig wird, dabei aber dem Farbstoff der Vacuole den Durchgang noch völlig verwehrt, wollen wir uns nunmehr dazu wenden, zu untersuchen, wie sich bei ihrem langsamen Tode ihre Impermeabilität für Färbstoffe verhält. Wird auch dieses Merkmal des lebenden Zustandes *allmählig* verschwinden?

Meine Beobachtungen haben diese Frage für die verschiedensten Versuchsbedingungen bejaht und ich wähle als Beispiele folgende Fälle aus.

Ein Präparat von *Tradescantia discolor* hatte während fünf Tage in einer zehnprocentigen Rohrzuckerlösung verweilt. Gleich anfangs waren die Zellen schwach plasmolysirt und in etwa einem Tage hatten sich die Protoplaste zu grossen violetten Kugeln abgerundet. Nachher waren das äussere Protoplasma und der Kern gestorben, ersteres hing der Wand der Vacuole in zerstreuten Fetzen, Körnern und Fäden an. Am fünften Targe hatten viele Vacuolen sich weiter contrahirt, ihr Umriss war dabei runzelig geworden, wie dies in Fig. 5 A u. B auf Taf. III abgebildet und im vorigen Abschnitt eingehend beschrieben worden ist 1). Die Farbe des Zellsaftes war in vielen dieser Vacuolen noch nicht vermindert. Daneben lagen aber andere, welche etwas blasser oder in den verschiedensten Nuancen zwischen dem dunklen Vlolett und der blassesten eben noch sichtbaren Farbe variirten. Auch waren mehrere bereits völlig entfärbt. Wo aber der Zellsaft noch deutlich gefärbt war, war die Farbe durch die Wand der Vacuole ebenso scharf begrenzt wie in normal plasmolysirten Zellen, die zwischen dem violetten Schlauch und der Zellhaut liegende Flüssigkeit war völlig farblos. Da in den einzelnen Zellen, welche die verschiedensten Stadien des Erblassens repräsentirten, die Intensität der Farbe während einer längeren Beobachtungsdauer sich nicht merklich veränderte, so darf man folgern, dass das Erblassen in jeder Vacuole äusserst langsam vor sich ging.

Ein anderes Präparat brachte ich in eine gleich starke Zuckerlösung (10 pCt.), welche 0,02 Aeq. schwefelsaures Kupfer enthielt, um die Protoplaste rascher zum Absterben zu bringen. Nach etwa zwanzig Stunden suchte ich eine Stelle aus, in der fünf Zellen ungefähr mit dem in Fig. 5 B auf Taf. III abgebildeten Grade der Plasmolyse sichtbar waren und liess das Präparat nun unter Deckglas, nachdem ich die betreffende Stelle gezeichnet hatte, ruhig zwei Tage unter dem Mikroskop liegen. Vier Zellen

1) Vergl. S. 385—388.

zeigten schon zu Anfang dieser Beobachtung einen blassvioletten Farbenton und hatten also schon einen bedeutenden Theil ihres Farbstoffes verloren. Nach fünf Stunden waren sie merklich blasser, doch noch deutlich gefärbt; nach 12 Stunden hatten zwei noch eine gerade sichtbare Farbe, die beiden anderen nicht mehr; nach 24 Stunden waren auch die beiden ersteren völlig verblasst. Die fünfte Zelle war anfangs noch dunkelviolett, fast von der normalen Intensität. Die Farbe nahm allmählig ab, war nach zweitägiger Beobachtung sehr stark verblasst, aber noch bei weitem nicht völlig verschwunden. Die Vacuolen contrahirten sich während der Beobachtung langsam aber deutlich, wenn auch nicht sehr stark.

Einen dritten Versuch stellte ich mit einem Präparate desselben Gewebes an, welches 13 Tage in einer grösseren Menge einer Rohrzuckerlösung von 3 pCt. ohne Zusatzt eines Giftes aufbewahrt worden war. Diese Lösung ist, wie bereits mehrfach erwähnt, zu schwach, um normale Plasmolyse zu verursachen, wenn aber nach längerer Zeit die äusseren Plasmatheile gestorben .sind, fangen die Vacuolen an, sich unter ähnlichen Erscheinungen wie im vorigen Versuch zu contrahiren (vergl. Fig. 7 auf Taf. III). Ich wählte nun eine Gruppe von Zellen aus, in denen die Hautschicht und die Zellkerne gestorben und die Vacuolenwände mehr oder weniger contrahirt waren; die Farbe des Zellsaftes hatte in allen diesen Zellen schon angefangen zu verblassen, wie aus der dunkleren Farbe anderer in demselben Präparate liegenden Zellen mit gleich starker Plasmolyse hervorging 1). Ich beobachtete diese Zellengruppe während mehrerer Tage, indem sie in einer Strasburger'schen feuchten Kammer unter dem Mikroskope ruhig liegen blieb. In vier Zellen waren nach 24 Stunden die Vacuolen bedeutend blasser, doch noch deutlich violett, nach weiteren 24 Stunden hatten diese alle Farbe verloren. In zwei anderen Zellen war 48 Stunden nach dem Anfange des Verblassens die Farbe der Vacuole noch deutlich violett und verblasste erst später völlig. Auch in diesem Versuche nahm der ganze Process des Verblassens also wenigstens einen bis mehrere Tage in Anspruch.

Aus allen diesen Versuchen folgt also, dass es bei langsam sterbenden Protoplasten nach angefangenem Verblassen Tage lang dauern kann, bis der im Zellsaft enthaltene Farbstoff völlig durch die Wand hinaus diffundirt ist. Erwägt man nun, dass die

1) Man vergleiche die Zelle A mit B in der citirten Fig. 7 (Taf. III).

Zellen der *Tradescantia discolor*, wie andere ähnlich gefärbte Zellen, nach einem plötzlichen Tode in wenigen Minuten sich vollständig entfärben, so leuchtet ein, dass beim langsamen Tode der Vacuolenwand die Permeabilität für Farbstoffe nicht plötzlich eintritt,sondern nur allmählig zunimmt.

Auch wenn ich in den Zellen der *Tradescantia discolor* im plasmolysirten Zustande durch Säuren das äussere Plasma tödtete, beobachtete ich ganz gewöhnlich, dass es von dem Augenblicke, wo der erste Anfang des Erblassens deutlich sichtbar wurde, häufig mehrere Stunden dauerte, bis die Farbe völlig verschwand. Während dieser Zeit hoben sich die Vacuolen immer als gefärbte Blasen mit scharfem Umriss in der umliegenden Salzlösung hervor; der ausgetretene Farbstoff diffundirte so rasch weiter, dass auch die nächste Umgebung der gefärbten Vacuolen stets ganz farblos erschien. Auch ohne Mitwirkung der Plasmolyse beobachtete ich ein solches allmähliges Erblassen in langsam sterbenden Zellen der *Tradescantia* häufig.

Fassen wir nun zum Schluss die Ergebnisse der in diesem Paragraphen mitgetheilten Versuche kurz zusammen, so können wir sagen:

1. Die Wände der isolirten Vacuolen sind anfangs auch für rasch diffundirende Salze nicht merklich permeabel.
2. Nach längerer Zeit, desto früher, einem je jüngeren Gewebe sie entnommen sind, lassen sie diese Salze durch sich hindurchgehen, ohne gleichzeitig auch für Farbstoffe durchlässig zu werden.
3. Später werden sie auch für Farbstoffe, und zwar anfangs nur in geringem Grade, permeabel.

Wir folgern hieraus, dass die für das Leben charakteristische Impermeabilität in die völlige und leichte Permeabilität des todten Zustandes, beim langsamen Sterben der isolirten Vacuolenwände nur langsam und gradweise übergeht.

Anhangsweise möchte ich hier noch eine Bemerkung über die Wirkung des schwefelsauren Kupfers auf die Impermeabilität der Zellsaftblasen für Farbstoffe einschalten. Lösungen von 0,01—0,05 Aeq. schwefelsaures Kupfer, welche eine noch gerade merkliche bläuliche Farbe besitzen, wirken an sich, oder in Verbindung mit schwach plasmolysirenden Substanzen, wie z. B. verdünnten Salzlösungen, auf die violetten Zellen der *Tradescantia* wie langsame Gifte ein. So z. B. in dem S. 408 beschriebenen Versuch. Die Zel-

len sterben unter ihrer Einwirkung je nach Umständen in einem oder doch in wenigen Tagen völlig ab und entlassen ihren Farbstoff vollständig. Lässt man das Kupfersalz aber auf stark contrahirte Vacuolen einwirken, so erlangt man häufig andere Resultate. So hielten z. B. Zellen, welche in 10 pCt. Salpeter plasmolysirt waren, in dieser Lösung viel länger aus, wenn ihr etwas Kupfersalz (0,05 Aeq.) zugesetzt war, als ohne dieses Gift. Ohne dieses waren die Zellen nach zwei Tagen sämmtlich entfärbt; in der kupferhaltigen Salpeterlösung hatte nach vier Tagen noch eine grosse Zahl von Vacuolen keine merkliche Spur von Farbe verloren. Nach sieben Tagen fand ich in einem dieser letzteren Präparate noch 15, nach vierzehn Tagen noch zwei kleine kugelige Saftblasen, deren Inhalt intensiv violett gefärbt war. Ein anderes Präparat aus demselben Gewebe war in eine Rohrzuckerlösung von 0,15 Mol. (5,13 pCt.) gebracht, welche 0,01 Aeq. schwefelsaures Kupfer enthielt. Die Vacuolen contrahirten sich hier, aus in § 4 zu erörternden Gründen, während die äusseren Plasmatheile und der Kern starben, allmählig so stark, dass sie weniger als ein Viertel des Zellenraumes einnahmen. In den vier ersten Tagen des Versuches entfärbten sich etwa die Hälfte der Zellen völlig, in den folgenden Tagen allmählig auch die übrigen, mit Ausnahme von fünf Zellen, in denen die contrahirten Vacuolen sogar nach drei Monaten noch nicht merklich an Farbe verloren hatten. Ja nach weiteren zwei Monaten waren von diesen noch zwei dunkel violett gefärbt.

Es geht hieraus hervor, dass in stark contrahirten Vacuolenwänden eine schwache Kupferlösung das Vermögen, den Farbstoff der Vacuole zurückzuhalten, viel länger conservirt, als es sonst in langsam sterbenden Vacuolen, auch bei starker Plasmolyse, erhalten bleibt. Aehnliche Resultate erhielt ich auch mit Quecksilberchlorid. Vielleicht bildet das Metall mit dem Protoplasma eine Verbindung, welche nach Art der Niederschlagsmembranen für Farbstoffe äusserst schwer durchdringbar ist, so lange wenigstens keine Risse den Austritt des Inhaltes ermöglichen. Eine bedeutende Resistenz jener Wände gegen Temperaturen oberhalb der Temperaturgrenze des Lebens spricht für diese Vermuthung. Doch ist es hier nicht der Ort, auf diesen Punkt näher einzugehen.

§ 3. Beschleuningung der Zunahme der Permeabilität durch Zusatz von Giften.

Wenn man das langsame Sterben, dem die Zellsaftblasen auch

in sonst unschädlichen Lösungen nach dem Tode der Hautschicht unvermeidlich ausgesetzt sind, durch Zusatz von geringen Mengen giftiger Substanzen beschleunigt, so kann man auch die im vorigen Paragraphen beschriebene langsame Zunahme der Permeabilität in sehr erheblicher Weise beschleunigen und dadurch die Erscheinungen, mittelst deren man diese Zunahme erkennt, bequemer und schöner zur Beobachtung bringen. Ein Beispiel dazu haben wir bereits in § 1 in der Einwirkung von Salpetersäure auf die contrahirten Protoplaste von *Tradescantia discolor* kennen gelernt (vgl. S. 397 und Taf. III, Fig. 1 A—D).

Neben dem auf S. 404 beschriebenen Versuch über die Impermeabilität der Vacuolenwände von *Tradescantia discolor* gleich nach dem Tode der Hautschicht und des Körnerplasma in zehnprocentiger Salpeterlösung, habe ich drei völlig gleiche Versuche angestellt, in denen Präparate aber, nachdem sie eine Stunde in der neutralen Salzlösung verweilt hatten und hier der Grad ihrer Plasmolyse nicht mehr merklich zunahm, in andere Lösungen übergeführt wurden. Diese enthielten dieselbe Menge Salpeter, dabei aber 0,05 Aeq. Salzsäure, 0,1 Aeq. Salzsäure und die dritte 0,1 Aeq. Salpetersäure. In diesen Präparaten hatten nun nach etwa acht Stunden die Vacuolen ihre Wände so weit ausgedehnt, dass sie etwa die Hälfte oder drei Viertel des Zellenraumes erfüllten, während sie anfangs kleiner als ein Viertel gewesen waren. Am stärksten war die Ausdehnung in der zuerst genannten Mischung. Die betreffenden Zellen hatten noch nicht merklich an Farbe eingebüsst; in jedem Präparate aber waren eine nicht unerhebliche Zahl von Saftblasen geplatzt und entfärbt.

Da in dem S. 404 beschriebenen Versuch in der neutralen Salzlösung auch nach 24 Stunden keine Volumzunahme der Vacuolen beobachtet wurde, ist es klar, dass ihre Wand durch die Säuren hier in kurzer Zeit sehr permeabel für das Salz gemacht worden war.

Ein anderes Präparat aus demselben Versuch brachte ich, nachdem es drei Stunden in der neutralen Salpeterlösung (10 pCt.) verweilt hatte, unter das Mikroskop und wählte eine Gruppe von Zellen zur Beobachtung aus. Nachdem ich diese mit der Camera lucida gezeichnet hatte, ersetzte ich die neutrale Lösung durch eine gleich starke, welche ausserdem 0,05 Aeq. Sälzsäure enthielt. Von Zeit zu Zeit verglich ich nun, mittelst der Camera, die jedesmalige Grösse der Vacuolen mit ihrer ursprünglichen Gestalt und im Laufe von fünf Stunden konnte ich in sieben Zellen

eine sehr bedeutende Zunahme in dem Volumen dieser Blasen constatiren. Die Zellengruppe lag weit vom Rande des Präparates entfernt, die Säure drang also langsam ein und es platzten dabei von den gezeichneten Vacuolen im Laufe jener Zeit nur zwei; eine gleich anfangs, die andere erst, nachdem ich eine deutliche Vergrösserung constatirt hatte.

Die in 10 pCt. KNO_3 isolirten Vacuolen von *Spirogyra nitida* dehnen bei längerem Aufenthalt in dieser Flüssigkeit ihre Wände nicht aus. Setzte ich der Lösung aber Krystalle einer löslichen Säure zu, oder ersetzte ich sie durch eine gleich starke Salpeterlösung, welche eine gewisse Menge einer Säure enthielt, so sah ich die Blasen häufig unter dem Mikroskop anschwellen und ihr Volum ganz bedeutend vergrössern 1). Ich beobachtete dieses beim Zusatz von Kryställchen von Oxalsäure, Picrinsäure und Chromsäure, und beim Ersetzen mit angesäuerten Lösungen, mit Salzsäure (0,05 Aeq.) und Essigsäure. Die angeschwollenen Blasen platzten endlich, stiessen ihren durch die Säure oft körnig gewordenen Inhalt aus und schrumpften zu einer ähnlichen faltigen Membran zusammen, wie nach dem raschen Auswaschen des Salzes mit Wasser.

Verdünnte Chromsäure liess die Wände der Vacuolen der *Spirogyra* mehrfach während der erwähnten Ausdehnung erstarren, ohne dass sie zusammenschrumpften oder ihren körnigen Inhalt ausstiessen; ihre Oberfläche blieb dabei glatt und wie gespannt.

In den beiden beschriebenen Versuchsreihen war das Salz stets Salpeter und das Gift stets eine Säure. Es war daher von Interesse, diesen Versuchen eine weitere Ausdehnung zu geben und sie einerseits über andere plasmolysirende Substanzen, andererseits über andere Gifte auszudehnen. Auch schien es wünschenswerth, neben *Spirogyra* und *Tradescantia* auch noch weitere Species in die Untersuchung hineinzuziehen. Aus diesen Gründen habe ich die Erscheinung der nachträglichen Ausdehnung plasmolysirter Protoplaste unter einer Reihe von verschiedenen Umständen studirt. Die wichtigsten der erhaltenen Resultate waren die folgenden:

Eine erste Versuchsreihe wurde mit den violetten Oberhautzellen von *Tradescantia discolor* und den rothen Epidermiszellen der Blattscheide von *Curcuma rubricaulis* gemacht. Die Präparate, welche je mehrere Hunderte von Zellen umfassten, verweil-

---

1) Diese Versuche wurden bereits im Abschnitt II § 5 S. 370 erwähnt.

ten erst ½—1 Stunde in Lösungen von 0,4 Aeq. (2,3 pCt.) NaCl, von 0,4 Aeq. (4 pCt.) KNO_3 und in solchen von 0,5 Aeq. (4,3 pCt.) K_2SO_4. Nach dieser Zeit hatten sich sämmtliche Protoplaste auf etwa Ein Viertel des Zellenraumes contrahirt. Jetzt wurden sie in Lösungen übergebracht, welche gleichviel des betreffenden Salzes und eine zwischen 0,1 und 0,5 Aeq. wechselnde Menge Säure enthielten. Es wurde für jeden einzelnen Versuch dieselbe Säure gewählt, welche auch in dem Salz enthalten war. Diese Lösung wurde derart hergestellt, dass jedesmal gleiche Mengen einer Salz- und einer Säurelösung vom doppelten Gehalt gemischt wurden. Schon nach ¼ bis 2 Stunden war bei *Tradescantia*, nach 2—3 Stunden bei *Curcuma* in allen Zellen eine deutliche Ausdehnung der Vacuolen sichtbar und nach etwa 10 Stunden erfüllten die Vacuolen überall drei Viertel oder mehr des Zellenraumes, in manchen Präparaten war sogar jede Spur von Plasmolyse verschwunden. Die Zellsäfte waren sämmtlich roth gefärbt, hatten aber von ihrem Farbstoffe noch nichts verloren. Es wurden im Ganzen mit jeder Art acht Versuche mit dem gleichen Erfolg angestellt.

Zur Controle wurden Präparate in dieselben Salzlösungen gebracht, aber in diesen ohne Zusatz von Säure gelassen. Auch nach mehreren Tagen wurde hier in keinem Falle auch nur eine Spur von Ausdehnung der Protoplaste beobachtet.

Aehnliche Resultate erhielt ich auch, als ich die Präparate sofort in die angesäuerten Salzlösungen brachte. Zwar war dann die anfängliche Contraction etwas geringer, weil das Salz bereits während dieses Vorganges in den Zellsaft eindringen konnte, dieser Nachtheil liess sich aber leicht durch eine etwas grössere Concentration des Salzes beseitigen. In diesen Versuchen benutzte ich, ausser den genannten Salzen, auch oxalsaure Salze, und zwar wurden die Präparate einfach in Lösungen von saurem oxalsaurem Kali oder Ammoniak gebracht.

Auch wenn ich die Plasmolyse, ohne Salz, durch eine höhere Concentration der Säure selbst hervorrief, dehnten sich in dieser Lösung die partiell getödteten Protoplaste nachher wieder aus. Auch hier erreichten sie ganz gewöhnlich anfangs eine Contraction bis auf ein Viertel des Zellraumes, um nachher wieder das ganze Zelllumen und zwar ohne Verlust an Farbstoff auszufüllen. Zu diesen Versuchen eignet sich die *Tradescantia* nicht, da sie zu wenig Säure erträgt, mit der *Curcuma* und den rothen Zellen des Blattstielparenchyms von *Begonia Rex* gelangen sie in schönster

Weise. Salzsäure, Schwefelsäure und Oxalsäure lieferten mir stets die besten Resultate; Salpetersäure hatte den erwähnten Erfolg nur in seltenen Fällen.

In einer zweiten Versuchsreihe wurden, statt Säure, verschiedene andere Gifte zugesetzt, und zwar wurden die Präparate sofort in die mit dem Gift gemischte Salzlösung gebracht. Als Versuchsmaterial dienten wiederum die violetten Oberhautzellen der Blätter von *Tradescantia discolor*. Es ist in diesen Versuchen ziemlich mühsam, die richtige Stärke des Giftes ausfindig zu machen, denn wenn es zu schwach ist, hat es keine Wirkung, und ist es zu stark, so tödtet es das ganze Protoplasma mit einem Male oder doch in so kurzer Zeit, dass es nicht möglich ist, eine Contraction und eine Ausdehnung der Protoplaste zu beobachten. Hat man die Menge des Giftes aber richtig gewählt, so beobachtet man regelmässig nach der anfänglichen starken Contraction eine eben so starke Ausdehnung der Protoplaste und zwar meist in wenigen Stunden.

Von über dreissig gelungenen Versuchen wähle ich die sechs folgenden aus und stelle ihre Resultate in eine Tabelle zusammen. Die Concentration des Salzes war überall die nämliche (0,4 Aeq.)[1] und zwar eine solche, dass in ihr, ohne Gift, die Protoplaste sich auf etwa ein Viertel des Zellraumes zu contrahiren pflegen. Die rasch zunehmende Permeabilität erlaubte aber in einigen Versuchen eine so starke Contraction nicht. Die Grösse der Protoplaste ist in der dritten und vierten Spalte in Vierteln des Zellraumes, nach dem Augenmaass, in der früher schon benutzten Weise, angegeben (vgl. S. 401). Die Präparate enthielten jedes mehrere Hunderte von Zellen, welche sich in der Contraction und in der Ausdehnung sehr gleichmässig verhielten; es war stets leicht, den Grad der Plasmolyse für alle Zellen mit einer oder mit zwei Zahlen anzugeben. Es bedeutet also 1,2, dass etwa die Hälfte der Protoplaste auf Ein Viertel, die andere Hälfte aber auf zwei Viertel der ursprünglichen Grösse contrahirt war. Die Vacuolen behielten bis zum Ende des Versuches ihre Farbe ohne jeden Verlust bei; in den mit Ammoniak behandelten Zellen war diese schön blau geworden.

---

1) Also 4 pCt. Kalisalpeter, 2,3 pCt. Chlornatrium und 3 pCt. Chlorkalium; diese Lösungen sind unter sich isotonisch.

Tabelle über die nachträgliche Ausdehnung in Salzlösungen plasmolysirter Protoplaste durch verschiedene Gifte.

Tradescantia discolor.

Salz in 0,4 Aeq	Gift	Grösse der Protoplaste		Dauer des Versuchs in Stunden
		nach $^3/_4$ bis 1 St.	am Ende	
NaCl	0,0125 Aeq. NH_3	1	4	24
KNO_3	„	1	3	8
KCl	0,00005 Aeq. Jodium	1,2	3,4	8
KNO_3	0,00002 Aeq. Jodium	1,2	3,4	5
KCl	0,001 Aeq. $HgCl_2$	2,3	3,4	8
KNO_3	0,001 Aeq. $HgCl_2$	2,3	3,4	5

Es ergiebt sich aus der Tabelle, dass die Erscheinung der nachträglichen Ausdehnung plasmolysirter Protoplaste von der Natur des angewandten Giftes unabhängig ist, denn sowohl Ammoniak als Jodium und Quecksilberchlorid haben dieselbe Wirkung wie freie Säuren.

§ 4. Ueber die stetig fortschreitende Plasmolyse in verdünnten Zuckerlösungen 1).

Die in den drei ersten Paragraphen dieses Abschnittes beschriebenen Erscheinungen hatten sämmtlich zur Bedingung, dass als plasmolytische Reagentien rasch diffundirende Salze benutzt würden. Denn nur, wenn das Reagens leichter durch die veränderte Wand der Vacuole dringen konnte, als die gelösten Bestandtheile des Zellsaftes, konnte eine Erhöhung der Permeabilität jener Wand eine Steigerung der osmotischen Kraft der Vacuolenflüssigkeit zur Folge haben.

Was wird nun geschehen, wenn wir an der Stelle jener sehr diffusiblen Substanzen solche von äusserst geringem Diffusions-

1) Von der in diesem Paragraphen zu beschreibenden Methode haben wir im Laufe dieser Arbeit bereits zwei Male eine Anwendung gemacht. Einmal haben wir in Abschnitt II, § 6 das allmählige Erstarren der Wände der in Zuckerlösungen abnormal contrahirten Vacuolen geschildert (S. 385), ein anderes Mal haben wir in Abschnitt III, § 2 das langsame Verblassen dieser Vacuolen beschrieben (S. 408—409).

vermögen setzen, wie z. B. Rohr- und Traubenzuckerlösungen? 1) Es hängt dieses offenbar zunächst davon ab, ob die löslichen Stoffe des Zellsaftes leichter diffundiren als diese Reagentien oder nicht. Nehmen wir also an, war für die Oberhautzellen von *Tradescantia* und *Curcuma* wohl erlaubt ist, dass ersteres der Fall sei und versuchen wir es, die Folgen dieser Voraussetzung klar zu legen. Der andere Fall bedarf offenbar einer eingehenden Discussion nicht, er wird entweder zu gar keinen plasmolytischen Erscheinungen oder zu den in den vorigen Paragraphen beschriebenen, Veranlassung geben.

Unsere Erörterung beziehen wir auf einen bestimmten Fall. Wir denken uns eine der genannten Zellen in eine Lösung von Rohrzucker gebracht, und zwar von solcher Concentration, dass sie noch gerade keine Plasmolyse hervorruft, dass aber osmotisches Gleichgewicht zwischen jener Lösung und dem Zellsaft besteht. Jetzt tödtet man durch irgend ein Gift das äussere Protoplasma und macht die Wand der Vacuole, ohne auch sie zu tödten, permeabel für die löslichen Bestandtheile des Zellsaftes oder auch nur für einige dieser, ohne ihr gleichzeitig das Vermögen zu ertheilen, Rohrzucker in merklicher Menge durchzulassen. Offenbar wird nun der Zellsaft durch Diffusion einen Theil seiner gelösten Stoffe verlieren, seine osmotische Kraft wird somit kleiner werden und das Gleichgewicht zwischen der äusseren und der inneren Lösung ist gestört. Es wird Plasmolyse eintreten und je mehr der Zellsaft durch Diffusion verliert, um so stärker wird die Plasmolyse werden. Und da die Diffusion offenbar wohl nur langsam von statten gehen wird, wird auch der Grad der Plasmolyse langsam aber stetig zunehmen. Ist die Wand im Stande, durch ihre elastische Spannung einen Theil ihres Inhaltes auf dem Wege der Filtration hinauszupressen, so wird die Erscheinung dadurch nur noch verstärkt werden.

Hat man gleich anfangs plasmolysirende Lösungen angewandt, so wird selbstverständlich auch in diesen der Grad der Plasmolyse stetig zunehmen.

Könnte man das äussere Protoplasma, ohne es zu tödten, in gleichem Maasse permeabel machen wie die Wand der Vacuole, so würden die Erscheinungen offenbar dieselben sein.

---

1) Die Diffusionsgeschwindigkeit von Rohr- und Traubenzucker erreicht in verdünnten Lösungen nach Graham nur etwa ein Drittel des gleichnamigen Werthes für Kalisalpeter.

Im Einzelnen betrachtet dürfen wir also bei solchen Zellen in Lösungen schwer diffundirender Substanzen die folgenden Erscheinungen erwarten. Sind die Lösungen so stark, dass sie gleich anfangs Plasmolyse hervorrufen, so wird der Grad der Contraction allmählig zunehmen und ein so hoher werden, als sonst erst in viel stärkeren Lösungen derselben Verbindung erreicht werden würde. Waren aber die Lösungen schwach und riefen sie gleich anfangs keine Plasmolyse hervor, so wird diese dennoch eintreten können, sobald das Protoplasma anfängt, permeabel zu werden, und einmal angefangen, wird die Contraction, wie im ersteren Falle, nicht stille stehen, sondern stetig fortschreiten.

Eine solche Plasmolyse müssen wir als abnormal bezeichnen 1), indem sie bei normalen unveränderten Protoplasten nicht vorkommt, sondern nur dem krankhaft veränderten, langsam sterbendem Protoplasma eigen ist. Von der normalen unterscheidet sie sich stets leicht und sicher dadurch, dass die Contraction nicht nach einer oder einigen Stunden einen Grad erreicht, welchen sie nun nicht mehr überschreitet, sondern dass sie stetig zunimmt. Bei Beobachtungen in nicht zu kurzen Zwischenräumen werden sich also die Zellen immer merklich verändert haben.

Aus dem Vorhergehenden ergiebt sich, dass die fraglichen Erscheinungen am lehrreichsten sind in solchen Lösungen, in denen die gesunden Protoplaste noch nicht plasmolysirt werden. Ich habe aus diesem Grunde für die meisten Versuche eine Lösung von 5,13 pCt. Rohrzucker gewählt. Diese enthält im Liter 0,15 Grammmolecül, ist mit 0,10 Aeq. (1,01 pCt.) KNO_3 isotonisch und ruft somit in den Zellen von *Tradescantia* und *Curcuma*, deren Turgorkraft in der Regel etwa = 0,13 Aeq. KNO_3 ist, noch keine Plasmolyse hervor.

Die jetzt zu beschreibenden Versuche werden zeigen, dass eine solche Zuckerlösung mit Hülfe eines beliebigen Giftes, oder auch nur bei hinreichend langer Dauer des Versuches ganz gewöhnlich einen beträchlichen Grad von Plasmolyse bedingt. Dazu kommt, dass diese Versuche in ihrer Ausführung sehr sicher sind, indem die Vacuolenwandungen eine solche stetige Contraction ohne merklichen Schaden längere Zeit ertragen können.

Eine erste Versuchsreihe wurde mit den violetten Oberhautzellen auf der Unterseite der Mittelnerven von *Tradescantia discolor* ausgeführt. Eine Rohrzuckerlösung von 0,3 Molecül (10,26

1) *Opera II*, S. 135.

pCt.) wurde in kleinen, etwa 20 CC fassenden Glascylindern jedesmal mit dem gleichen Volum einer verdünnten Lösung des zu verwendenden Giftes gemischt, und nachdem die Präparate hineingebracht waren, wurden die Röhrchen mit Stopfen geschlossen. Die nach der Mischung vorhandene Concentration des Zuckers war also stets 5,13 pCt., diejenige des Giftes wird jedesmal in der Tabelle angegeben werden. Eine Controle bestätigte, dass diese Zuckerlösung, ohne Zusatz, während 24stündiger Einwirkung keine Plasmolyse bedingte. In meinen Notizen habe ich von Zeit zu Zeit den Grad der Plasmolyse eingeschrieben, um mich über das allmählige Fortschreiten zu belehren, in die Tabelle werde ich aber jedesmal nur Eine Beobachtung anführen.

Der Natur der Sache entsprechend erreichte die Plasmolyse nur selten in allen Zellen des Präparates annähernd denselben Grad; häufig sah man stark contrahirte neben viel schwächer afficirten Protoplasten liegen; in einigen Fällen erreichte das Gift während des Versuches die Mitte des Präparates offenbar nicht, indem hier keine Plasmolyse beobachtet wurde. Solche Zellen wurden deshalb von der Tabelle ausgeschlossen. Der Grad der Plasmolyse ist, nach S. 401, in Vierteln des Zellenraumes angegeben.

Tabelle über die stetige Contraction der Protoplaste in einer Zuckerlösung von 0,15 Mol. unter der Einwirkung verschiedener Gifte.

Tradescantia discolor.

Gifte.	Concentration des Giftes in Aeq.	Grad der Plasmolyse am Ende des Versuchs.	Dauer des Versuchs in Stunden.
Salzsäure	0,005	1, 2, 3	2
Oxalsäure	0,025	1, 2, 3	1
Ammoniak.	0,05	2, 3	9
Kalihydrat.	0,05	3	1
Kalihydrat.	0,025	3	5
Jodium	0,0001	1, 2, 3	2
Aether	0,15	2, 3	24
Schwefelsaures Kupfer .	0,01	1, 2, 3	24
Quecksilberchlorid . .	0,01	1, 2	2

Genau in derselben Weise habe ich diese Versuche auch mit den rothen Oberhautzellen der Blattscheide von *Curcuma rubri-*

caulis durchgeführt, welche gleichfalls in der betreffenden Zuckerlösung an sich, Tage lang ohne Plasmolyse bleiben können.

Tabelle über die stetige Contraction der Protoplaste in einer Zuckerlösung von 0,15 Mol. unter der Einwirkung verscheidener Gifte.

Curcuma rubricaulis.

Gifte.	Concentration des Giftes in Aeq.	Grad der Plasmolyse am Ende.	Dauer des Versuchs in Stunden.
Salzsäure	0,025	3	24
Oxalsäure.	0,025	2, 3	24
Jodium	0,00125	2, 3	24
Aether	0,3	2, 3, 4	24
Schwefelsaures Kupfer .	0,1	3	24
Quecksilberchlorid. . .	0,05	3, 4	2

Die Resultate beider Tabellen sprechen für sich.

Genau dieselbe Erscheinung beobachtete ich bei *Tradescantia discolor* häufig bei Versuchen mit schwachen Lösungen schwer diffusibler Salze, wenn diese durch geringen Zusatz von Kalihydrat oder kohlensaurem Kali dem Leben schädlich gemacht worden waren. War der Zusatz ein sehr geringer, so trat die Erscheinung nur langsam und zunächst am Rande ein; ich sah dann hier erst einzelne, später zahlreiche Zellen, deren violetter Saft blau geworden und deren Inhalt mehr oder weniger stark plasmolysirt worden war, während sonst in den wie gewöhnlich mehrere Hunderte von Zellen umfassenden Präparaten, alle Zellen ohne Contraction und von normaler violetter Farbe waren. Das gleichzeitige Vorschreiten beider Veränderungen vom Rande nach der Mitte macht diese Erscheinungen besonders schön und kaum dürfte für derartige Beobachtungen eine Pflanze besser geeignet sein, als gerade unsere *Tradescantia.*

Zum Detail der Versuche übergehend, führe ich beispielsweise die folgenden an. In einer Lösung von 0,15 Aeq. (1,6 pCt.) äpfelsauren Kaliums, welche in Folge eines geringen Gehaltes an kohlensaurem Kali auf Lackmusspapier kaum merklich alkalisch reagirte, verweilten Präparate der *Tradescantia* fünf Tage. Alle Zellen waren gleich anfangs schwach plasmolysirt und die des Cen-

trums noch jetzt in diesem Zustande und von normaler violetter Farbe. Am Rande hatten sich jetzt aber die Protoplaste bis auf die Hälfte ihres Volumes contrahirt, und ihre Inhalte waren schön blau gefärbt. Aehnliches beobachtete ich in 0,18 Aeq. (1,9 pCt.) desselben Salzes und in 0,15 und 0,18 Aeq. (1,7 und 2,0 pCt.) weinsauren Kaliums. In einer Lösung von 0,35 Aeq. (2,7 pCt.) äpfelsauren Magnesiums, welche gleichfalls durch kohlensaures Salz schwach alkalisch gemacht worden war, zeigten Präparate von *Tradescantia* nach 24 Stunden die meisten Zellen violett und ohne Plasmolyse, am Rande aber zerstreute Zellen mit blauem Inhalte, der auf ¾, ½ und sogar auf ¼ des ursprünglichen Volumes contrahirt war. Nach weiteren vier Tagen waren nur noch einzelne Zellen der Mitte unverändert; weitaus die meisten waren blau und mehr oder weniger stark plasmolysirt. In Lösungen von schwefelsaurem Kalium und von schwefelsaurem Magnesium verursachten Spuren Kalihydrat oder saures kohlensaures Kalium ähnliche Erscheinungen. Endlich erwähne ich noch einen Versuch mit citronensaurem Kalium, welches Spuren kohlensauren Kaliums enthielt; für diesen Versuch benutzte ich neben *Tradescantia discolor* auch *Curcuma rubricaulis*. Beide zeigten nach 24 Stunden in 0,21 Aeq. (2,1 pCt.) des genannten Salzes weitaus die meisten Zellen unverändert, am Rande jedoch mehr oder weniger zahlreiche, deren Saft blau gefärbt und deren Inhalt bis auf ein, zwei oder drei Viertel des Zelllumens plasmolysirt war. Auch in anderen Lösungen erhielt ich ähnliche Resultate.

Es sei an dieser Stelle gestattet, daran zu erinnern, dass, wie auf S. 414 mitgetheilt wurde, sowohl die Zellen der *Tradescantia* als die der *Curcuma* in einer angesäuerten Lösung von schwefelsaurem Kalium die Erscheinung der nachträglichen Ausdehnung der vorher bis auf etwa ein Viertel des Zellenraumes contrahirten Zellsaftblasen zeigen können. In derselben Salzlösung kann also je nach Umständen, bei gleich bleibender Concentration, eine zunehmende Contraction oder eine nachträgliche Ausdehnung stattfinden [1]). Aehnliches gilt ohne Zweifel auch von anderen

1) Eine Wiederholung dieser beiden Versuche mit Präparaten aus der Oberhaut eines und desselben Blattes gab bei Anwendung von verdünnter Schwefelsäure als Gift eine nachträgliche Ausdehnung der vorher contrahirten Saftblasen in wenigen Stunden; bei Anwendung von Spuren von kohlensaurem Kali eine stetige Zunahme der Plasmolyse in einigen Tagen; beides ohne Verdünnung der Kaliumsulfatlösung. Also dasselbe Resultat wie früher.

Salzen mit gleichem Diffusionsvermögen [1]). Die Erklärung dieses entgegengesetzten Verhaltens wird wohl theils in dem verschiedenen Grade der Zunahme der Permeabilität der Vacuolenwandung in den verschiedenen Versuchen gesucht werden müssen, theils aber wird man dazu annehmen dürfen, dass im Zellsaft der betreffenden Zellen Verbindungen von sehr verschiedener Diffusionsgeschwindigkeit enthalten sind.

Bei längerer Versuchsdauer tritt, wie zu erwarten, in Lösungen von 0,15 Mol. (5,13 pCt.) Rohrzucker auch ohne Zusatz von schädlichen Substanzen eine abnormale Plasmolyse ein; diese fängt gewöhnlich erst nach einigen Tagen an. Folgende kleine Tabelle enthält einige hierüber gemachte Beobachtungen.

Tabelle über die stetige Zunahme der Plasmolyse in schwachen Rohrzuckerlösungen ohne Zusatz von Giften.

	Grösse der Protoplaste		Versuchsdauer in Tagen
	nach 2 Tagen	am Ende des Versuchs	
Curcuma rubricaulis . .	4	3,4	5
Tradescantia discolor. .	4	2,3	5
Dieselbe, jung . . .	4	2	4
„ „ . . .	4	2,3	3

Zu den beiden ersteren Versuchen wurden ausgewachsene Blätter, zu den letzteren nur etwa halbwegs ausgewachsene benutzt; die letzteren zeigen die Erscheinungen früher als die ersteren, sie sterben in den Lösungen rascher.

Auch in neutralen Salzlösungen beobachtete ich ohne Zusatz irgend welcher schädlichen Stoffe häufig eine stetige Contraction der Protoplaste in Lösungen, welche anfangs nicht oder nur in geringem Grade plasmolysirend wirkten. Als Beispiel führe ich Beobachtungen mit *Tradescantia discolor* an, in denen Präparate nach 3- bis 4tägigem Aufenthalt in schwachen Lösungen von schwefelsaurem Kalium und schwefelsaurem Magnesium in der Mitte keine, am Rande aber eine ganz bedeutende Contraction der Protoplaste aufwiesen. Dabei ist hervorzuheben, dass die Zellsäfte

1) Die Diffusionsgeschwindigkeit von KNO_3 verhält sich zu derjenigen von K_2SO_4 in verdünnten Lösungen, nach Graham, ungefähr wie 1,5 : 1.

in sämmtlichen Zellen ihre normale Farbe behielten, dass also eine alkalische Reaction des Salzes, welche man nach den oben mitgetheilten Versuchen zunächst als die Ursache der Erscheinung vermuthen möchte, ausgeschlossen war.

Alle in diesem Paragraphen mitgetheilten Versuche bestätigen also den im Anfang aufgestellten Satz, indem sie in Lösungen schwach diffusibler Substanzen eine stetig zunehmende Plasmolyse während des langsamen Sterbens nachweisen.

§ 5. Ueber die Anwendung der Plasmolyse bei mikrochemischen Reactionen.

Wenn es sich darum handelt, im Zellsaft gelöste Stoffe auf mikrochemischem Wege nachzuweisen, so ist vielfach die Plasmolyse im Stande, die Reaction schärfer und schöner hervortreten zu lassen, da sie den Zellsaft mehr concentrirt, und ihn dazu von der Zellhaut entfernt. Sind die Vacuolen zu kleinen Kugeln geworden, bevor das Reagens in sie eindringt, so wird manchmal der von diesem verursachte Niederschlag die Kugel nahezu gänzlich ausfüllen, und wenn man für ein langsames Erstarren der Vacuolenwand Sorge getragen hat, so wird der Niederschlag auf die Dauer von dieser Wand umschlossen bleiben.

Ganz besonders schöne Präparate habe ich in dieser Weise mit verschiedenen Gerbstoffreagentien erhalten, wenn ich diese in starken Salzlösungen auf die Zellen der *Spirogyra nitida* einwirken liess [1]. Und da diese Reactionen, zumal die Silberreaction, in der letzten Zeit so vielfach besprochen wurden, möchte ich sie hier anhangsweise beschreiben [2].

Je nachdem es sich darum handelt, nur die Anwesenheit eines bestimmten Stoffes in gewissen Zellen nachzuweisen, oder dessen Vertheilung über die einzelnen Organe der Protoplaste zu erkennen, ist die eine oder die andere Art der Plasmolyse vorzuziehen. Bei ersterer Aufgabe ist es zweckmässiger, wenn dieses möglich ist, nur die Vacuolen und nicht auch das äussere Plasma zu contrahiren; die Reaction tritt dann nur im Zellsaft ein, da das todte

---

1) An verschiedenen Stellen, zumal in zweiten Abschnitt § 4 und 5, wurde diese Reaction bereits bei meinen Versuchen angewandt; man vergleiche die daselbst gegebenen Beschreibungen (S. 366, 367, 374) und ferner: Over Looistofreactiën van *Spirogyra nitida, Opera II, S.* 307.

2) Die Silberreaction der *Spirogyren* wurde von Loew und Bokorny in ihrer Schrift: „Die chemische Ursache des Lebens" beschrieben und abgebildet.

Plasma seine löslichen Bestandtheile vor dem Zusatze des Reagens durch Diffusion verlieren kann. Für den in zweiter Linie genannten Zweck eignen sich zumal jene Formen der normalen Plasmolyse, in denen das äussere Plasma auf erhebliche Strecken von Vacuolen befreit ist, wie z. B. in dem auf Taf. IV Fig. 7 A abgebildeten Zustande. Gerade für diesen Zustand haben wir bereits früher erwähnt, wie Osmiumsäure und Eisensalze auch hier nur den Inhalt der Vacuolen, nicht aber den sie verbindenden Plasmastrang schwarz färben. Uebrigens bekommt man bei *Spirogyra nitida* bei der Behandlung mit zehnprocentiger Salpeterlösung bekanntlich die verschiedensten Formen der Plasmolyse in demselben Präparate, und kann man diese also, nach Zusatz des Reagens, leicht mit einander vergleichen.

Die folgenden Betrachtungen beziehen sich vorzugsweise auf die mehr oder weniger vom äusseren Plasma isolirten Vacuolen.

Die lebendigen Wände der Vacuolen trennen den Gerbstoff und das Reagens während einer längeren oder kürzeren Zeit, indem sie für beide anfangs nicht permeabel sind. Beim längeren Aufenthalt wird dieser Widerstand aber beseitigt, und nun findet man im Innern der erstarrten Kugel den Niederschlag in typischer Form abgesetzt. Süsst man nun die äussere Lösung aus und entfärbt dadurch, wenn nöthig, die übrigen von ihr durchdrungenen Theile, so erhält man meist sehr schöne Präparate, in denen nur die kugligen Blasen gefärbt sind. War das Reagens doppeltchromsaures Kali, so sind die Vacuolenwände gleichmässig braun, ihr Inhalt aber ist farblos und der grösste Theil des Niederschlages liegt als grosse braune durchscheinende Körner auf der Innenseite der Vacuolenwandung.

Die Eisenreaction stellt die Fig. 5 auf Taf. IV dar, wie sie an einer in zehnprocentiger Salpeterlösung partiell getödteten Zelle auf Zusatz von etwas Eisenchlorid, ohne Verdünnung der äusseren Lösung, eintrat. Nach einiger Zeit war das Eisensalz durch die noch unverletzte Wand in den Zellsaft gedrungen und hatte hier mit dem Gerbstoff den bekannten dunkelblauen Niederschlag gebildet, der die Vacuolen anscheinend völlig ausfüllte. Mit essigsaurem Eisen erhielt ich ähnliche Resultate. Setzte ich dieses zu, ohne darauf zu achten, dass dadurch die äussere Lösung nicht verdünnt würde, so platzten die isolirten Saftblasen ganz gewöhnlich und indem sie ihren Inhalt durch den Riss ausstiessen, entstand vor diesem der Niederschlag in Form einer mehr oder weniger dichten Körnermasse. Diese Massen waren im Innern

ziemlich dicht, am Umfange aus mehr zerstreuten Körnchen gebildet und erhielten sich bei ruhigem Liegen der Präparate oft mehrere Stunden.

Auch nach dem Platzen der Vacuolen in doppeltchromsaurem Kali beobachtete ich ähnliche Resultate.

Durch Erwärmen kann man die gespannten Saftblasen leicht zum Platzen bringen und wenn man dieses in einer eisenhaltigen Umgebung vornimmt, erhält man den S. 374 beschriebenen und auf Taf. IV in Fig. 6 abgebildeten Erfolg. Auch ohne Mitwirkung der Plasmolyse hat das Erwärmen der Präparate in dem Reagens, falls dieses nicht schon an sich die Zellen tödtet, oft erhebliche Vortheile, indem die Reaction beim Ueberschreiten der Temperaturgrenze des Lebens in den betreffenden Zellen plötzlich eintritt. So z. B. beim Erwärmen von nicht zu dünnen, gut ausgewaschenen Schnitten aus dem Rhizom verschiedener Rheum-Arten in einer eisenhaltigen Lösung: die Chrysophanzellenreihen färben sich dabei plötzlich schwarz.

Eine neue und die bisher üblichen an Schönheit der Präparate und Sicherheit der Deutung weit übertreffende Gerbstoffreaction hat in jüngster Zeit Moll [1]) beschrieben. Er behandelt ganze Pflanzentheile zunächst mit essigsaurem Kupfer und verwandelt in den daraus hergestellten mikroskopischen Schnitten das gerbsaure Kupfer in gerbsaures Eisen. In den Vacuolen der *Spirogyra* gaben die verschiedensten Kupfersalze einen deutlich körnigen Niederschlag; ich beobachtete dieses für das essigsaure und das schwefelsaure Salz, sowie auch für das Chlorid. Gar häufig erstarrten dabei die Zellsaftblasen in schönster Weise. Als ich jetzt solche Fäden in essigsaures Eisen brachte, nahm der Niederschlag die charakteristische tiefblaue Farbe an.

Setzte ich der Salpeterlösung eine Spur salpetersaures Silber zu, so füllten sich die Vacuolen allmählig mit einem dichten Niederschlag, der, nach Entfernung des Reagens dem Lichte ausgesetzt, eine tiefschwarze Farbe annahm. In den durch das Silbersalz sonst blassbräunlich gefärbten Zellen bildeten nun die Vacuolen schwarze scharfbegrenzte Kugeln.

Lässt man die Fäden einige Stunden oder mehrere Tage in der Salpeterlösung, bevor man sie mit dem Reagens in Berührung bringt, so erstarren, wie bereits mitgetheilt wurde, die Wände der

---

1) J. W. Moll, Eene nieuwe microchemische Looizuur-reactie. Maandblad voor Natuurwetenschappen, Nov. 1884, No. 7, S. 97.

Vacuolen, sie lassen den Gerbstoff durchgehen und die Silberreaction tritt nachher nicht mehr ein.

Die mitgetheilten Beobachtungen lehren:

1. dass beim langsamen Sterben der contrahirten Vacuolen im Reagens der Niederschlag oft ausschliesslich im Zellsafte entsteht, und zwar mit sehr scharfer Begrenzung;
2. dass beim Platzen der Vacuolen im Reagens (durch Verdünnung der äusseren Lösung oder durch Wärme) der Niederschlag sich momentan vor dem Risse als dichter Körnerhaufen bildet;
3. dass Vacuolen, welche zu lange Zeit in der Salpeterlösung verharrten, ihren Inhalt grösstentheils durch Diffusion verloren haben können; unter diesen Umständen tritt die Reaction also nicht mehr ein.

Die durch diese Beispiele erläuterte Methode ist voraussichtlich einer viel allgemeineren Anwendung fähig, indem sie es ermöglicht, auch solche Reagentien unter dem Mikroskope anzuwenden, welche mit gewissen Bestandtheilen des Zellsaftes farblose Niederschläge geben. Denn da durch die Plasmolyse die Concentration des Zellsaftes sehr bedeutend erhöht wird, und das Reagens nachher in den Zellenraum eingeführt werden kann, bevor beide mit einander in Berührung kommen, so gestalten sich die Bedingungen für die Sichtbarkeit eines farblosen Niederschlages offenbar viel günstiger als ohne Anwendung der Plasmolyse.

Zur Beurtheilung eines Niederschlages ist es in der Chemie häufig erforderlich, ihn auf seine Löslichkeit oder Unlöslichkeit in verschiedenen Reagentien zu prüfen. Ist der Niederschlag in Vacuolen mit erstarrter Wand enthalten, so kann man das erzeugende Reagens leicht ohne Schaden auswaschen, um nachher die Wirkung anderer zu studiren und zu erforschen, ob sie den Inhalt jener Blasen herauslösen oder nicht.

Hat man auf makrochemischem Wege in einem Pflanzentheile bestimmte gelöste Körper nachgewiesen, so wird es oft, hoffe ich, mittelst dieser Methode gelingen, sie mit denselben Reagentien ~~auch in den~~ einzelnen Zellen aufzufinden und so ihre Verbreitung über die verschiedenen Zellen des untersuchten Organs kennen zu lernen.

Uebersicht der Resultate.

Die in diesem Abschnitt beschriebenen Versuche lehren erstens, dass die Wände der isolirten Vacuolen gleich anfangs zwar für Säuren und Basen, nicht aber für leicht diffusible Salze, wie Kalisalpeter, permeabel sind. Ersteres sieht man in Zellen mit gefärbtem Zellsaft an dem Farbenwechsel der Vacuole, letzteres daran, dass nach der Plasmolyse in der Salpeterlösung keine nachträgliche Ausdehnung stattfindet.

Untersucht man die Wand einer Vacuole aber, nachdem sie bereits einige Tage in der Salzlösung verweilt hat, so findet man sie für Chlornatrium und Salpeter mehr oder weniger permeabel. Hat man sie gleich anfangs mit einer verdünnten Lösung irgend eines Giftes behandelt, so wird sie für jene Salze viel früher und oft in merklich höherem Grade permeabel. Der Beweis dafür liegt in der nachträglichen Ausdehnung, welche sie jetzt innerhalb der plasmolysirenden Salzlösung, und ohne dass diese verdünnt würde, erleidet. Dabei blieb sie, wenigstens zunächst, undurchlässig für Farbstoffe, im Besonderen für den Farbstoff des Zellsaftes, falls man gefärbte Zellen anwandte.

Die Art des Giftes hat auf diese Beschleunigung der Zunahme der Permeabilität nur im quantitativen Sinne einen Einfluss.

Werden die Vacuolenwände nach mehrtägigem Aufenthalt in den neutralen Salzlösungen, oder nach mehrstündiger Einwirkung eines Giftes, auch für den Farbstoff des Zellsaftes permeabel, so geschieht auch dieses nur langsam und der Vorgang des sichtbaren Verblassens dauert im letzteren Falle mehrere Stunden, im ersteren nicht selten sogar einige Tage.

In Lösungen schwer diffusibler Substanzen, wie z. B. Rohrzucker, darf man annehmen, dass die leichter diffusiblen Bestandtheile des Zellsaftes durch Diffusion entweichen, ehe die Wände der Vacuolen auch für Zucker und Farbstoffe permeabel werden, und dass also die osmotische Kraft ihrer Vacuolen allmählig abnehmen wird. Dementsprechend beobachtet man hier, nach dem Tode des äusseren Plasma, eine continuirliche Abnahme des von ihnen umschlossenen Volumens, eine stetige Zunahme im Grade der Plasmolyse, lange bevor der Zellsaft zu erblassen anfängt.

Setzt man zu Präparaten mit plasmolytisch contrahirten Protoplasten oder Vacuolen Reagentien, welche mit den Bestandtheilen des Zellsaftes einen Niederschlag bilden können, und hat das Reagens grössere Diffusionsgeschwindigkeit als der betreffende

Inhaltskörper, so kann ersteres durch die Wand der Vacuole diffundiren, bevor diese noch vollständig gestorben und erstarrt ist. Der Niederschlag wird somit nur innerhalb der noch gespannten Blase entstehen. Gerbstoffhaltige Zellen geben z. B. in dieser Weise mit den betreffenden Reagentien behandelt, sehr schöne Präparate. Es lässt sich nach dieser Vorschrift mit Sicherheit entscheiden, ob eine Verbindung im Leben im Zellsaft gelöst, oder in den Organen des Protoplasten (z. B. den Chlorophyllkörnern) im imbibirten Zustande angehäuft ist.

Hauptresultat dieses Abschnittes ist aber der Satz, dass die Vacuolenwände nach dem Tode des äusseren Plasma nicht plötzlich, sondern nur allmählig permeabel werden, zuerst für leichter, später für schwerer diffusible Stoffe. Wenn sie für erstere schon in hohem Grade durchlässig sind, sind sie gewöhnlich noch relativ sehr dehnbar und osmotischer Spannung fähig. Die Zunahme der Permeabilität beruht also auf eine moleculare Veränderung, nicht auf die Entstehung von Rissen.

Alle Erscheinungen, welche ich in diesem und den beiden vorigen Abschnitten an langsam sterbenden Wänden von isolirten Vacuolen beobachtete, lassen sich auf die allmählige Zunahme, einerseits der Todesstarre, andererseits der Permeabilität zurückführen. Halten diese beiden Vorgänge gleichen Schritt? Und sind beide vielleicht Aeusserungen derselben molecularen Veränderung im sterbenden Protoplasma? Falls ja, welche ist die wahre Natur dieser Veränderung, welcher Chemismus liegt ihr zu Grunde? Von der Beantwortung dieser Fragen, deren Berechtigung wohl auch für die übrigen Organe der Protoplaste zugegeben werden wird, dürfen wir wohl einmal einen tieferen Einblick in das Wesen des Lebens und des Todes erwarten.

Anhang. Ueber die Impermeabilität gesunder Protoplaste.

Einleitung.

Die im vorigen Abschnitte beschriebenen Erscheinungen gestatten uns die Ausarbeitung einer neuen Methode für den Beweis des Satzes, dass normale Protoplaste für unschädliche Salze, wenn solche als plasmolytische Reagentien angewandt werden, nicht in merklicher Weise permeabel sind. Diesen Satz habe ich bereits 1871 in Anschluss an die bahnbrechenden Arbeiten Nägeli's über die diosmotischen Erscheinungen des lebenden Plasmaschlauches begrün-

det [1]). Er bildet die Grundlage für die Ermittelung der isotonischen Coëfficienten und für die Messung der Turgorkraft auf plasmolytischem Wege [2]). Es ist also vom höchsten Interesse, seine experimentelle Grundlage so genau und so sicher zu machen, als die jedesmal vorhandenen Erfahrungen dieses erlauben, und somit auch seine Richtigkeit nach einer von der bis jetzt gebrauchten abweichenden Methode zu prüfen.

Diese neue Methode beruht auf der Vergleichung der niedrigsten zur Plasmolyse erforderlichen Concentration beim plötzlichen Eintauchen der Präparate in die betreffenden Salzlösungen und bei langsamer Zunahme der Concentration der die Präparate umspülenden Lösung. Sind die Protoplaste für das Salz impermeabel, so muss der gefundene Werth nach beiden Methoden derselbe sein, sind sie dagegen permeabel, so kann beim langsamen Eindringen Salz in die Vacuole hineindiffundiren, noch ehe jene Grenze erreicht wird, die Turgorkraft wird somit zunehmen, und es wird zur Plasmolyse eine höhere Concentration nothwendig sein als beim plötzlichen Eintauchen.

Die auf diesem Princip beruhende Methode werde ich im ersten Theile dieses Anhanges, die damit angestellten Versuche und Control-Versuche aber im zweiten Theile beschreiben.

§ 1. Beschreibung der Methode.

Den im vorigen Abschnitt beschriebenen Versuchen war es gemeinsam, dass die Concentration der plasmolytischen Reagentien für jedes einzelne Präparat während der ganzen Versuchsdauer dieselbe blieb. Die mitgetheilten Thatsachen erlauben aber auch eine Beantwortung der Frage, was geschehen wird, wenn diese Concentration während des Versuches abgeändert wird, und im Speciellen, wenn sie langsam von Null bis weit über die zur Plasmolyse erforderliche Grenze heransteigt. Es wurde bereits bemerkt, dass auch hier das Resultat ein ganz anderes sein wird, je nachdem der wandständige Plasmaschlauch für das fragliche Reagens permeabel ist oder nicht.

Die Bedeutung der auf diesem Principe der langsam steigenden Concentration beruhenden Methode, und die Versuchseinrichtung, welche sie fordert, wird am leichtesten klar werden, wenn ich sie

1) *Opera I*, S. 86. Vergl. Nägeli. Pflanzenphysiologische Untersuchungen, Heft 1.

2) *Opera II*, S. 137.

zunächst an einem bestimmten Beispiel erläutere. Ich wähle dazu einen Versuch, in welchem das Protoplasma durch eine Säure gleich anfangs in ziemlich hohem Grade permeabel gemacht worden war [1]), aber dennoch bis zum Ende für den Farbstoff des Zellsaftes undurchlässig blieb.

Als Untersuchungsmaterial dienten Längsschnitte aus der rothen Blattscheide von *Curcuma rubricaulis*, als Säure Oxalsäure. Diese letztere wurde in solcher Menge angewandt, dass sie gleichzeitig als plasmolytisches Reagens diente, dass also der Zusatz eines besonderen Körpers zu diesem Zweck vermieden wurde. Die Anordnung des Versuches hatte zum Zweck, die Concentration der Oxalsäure so langsam zunehmen zu lassen, dass sie nahezu in demselben Maasse durch die Protoplaste in die Vacuolen eindringen könnte, in welchem sie den Zellen selbst zuströmte. Denn in diesem Falle war zu erwarten, dass sie sich in den Zellsäften anhäufen würde, bevor sie noch in den Zellhäuten eine hinreichende Concentration erreichte, um Plasmolyse einzuleiten. Ich verfuhr dabei folgendermaassen:

In ein weites Becherglas brachte ich 50 CC destillirtes Wasser, welches hier eine etwa 1 cm hohe Schicht bildete. Eine Diffusionszelle von 100 CC Inhalt, deren untere Oeffnung 5,0 cm Durchmesser hatte und mit Pergamentpapier überzogen war, wurde in dem Becherglase derart befestigt, dass die Membran überall genau mit der Oberfläche der äusseren Flüssigkeit in Berührung kam und nur sehr wenig in diese hineintauchte. Die Zelle lag an einem Punkte der Wand des Becherglases an und enthielt eine Schicht reiner kalifreier Krystalle von Oxalsäure und eine gesättigte Lösung desselben Körpers. Am Ende des Versuches waren noch nicht alle Krystalle verschwunden, die innere Lösung war also fortwährend wenigstens nahezu gesättigt geblieben.

Als Untersuchungsobjecte dienten, wie gesagt, Längsschnitte aus der rothen Blattscheide von *Curcuma rubricaulis* und zwar wurden die Parenchymzellen beobachtet. Ein grösseres Präparat wurde an einem Pferdehaar derart befestigt, dass es leicht aus der Lösung herausgenommen, mikroskopisch untersucht und wieder hineingebracht werden konnte, ohne die Flüssigkeit in erheblichem Grade zu bewegen. Die übrigen Präparate wurden erst am Schlusse des Versuches geprüft. Gleichzeitig mit der Beobachtung jenes Präparates wurde jedesmal vorsichtig 1 CC der äusseren Flüssigkeit

1) Vergl. Abschnitt. III, § 3.

herausgenommen und mit zehntelnormalem Barytwasser und Lackmuss titrirt. An die 1 CC-Pipette war am oberen Ende ein langes Kautschuk-Rohr angebracht, wodurch ich während des Saugens das Steigen der Flüssigkeit in der Pipette folgen und ein Rückfliessen aus dieser also vermeiden konnte. Die Probe wurde jedesmal in der Nähe des Präparates genommen und zwar so vorsichtig, dass keine rasche Bewegung in der Flüssigkeit Schaden bringen konnte.

Um mit voller Sicherheit zu erfahren, ob zu irgend einer Zeit während der Versuchsdauer Plasmolyse stattfand, wurde die mikroskopische Prüfung anfangs halbstündlich, später stündlich, zuletzt aber in grösseren Zwischenräumen vorgenommen. Die Beobachtungszeiten waren die folgenden.

Anfang des Versuchs am 11. April 1881, des Vormittags um 10 Uhr.

	Stunden.	Acidität d. äuseren Flüssigkeit.
11. April	10.30	—
	11.—	—
	11.30	—
	12.—	—
	1.—	0,44 Aeq. Oxalsäure (2,0 pCt.)
	2.—	0,53 „ „
	3.—	0,64 „ „
	4.—	0,72 „ „
	6.—	0,82 „ „
	9.15	0,94 „ „
12. April	10.10	1,13 „ „ (5,1 pCt.)

Bei keiner dieser elf Beobachtungen wurde auch nur in einer einzigen Zelle Plasmolyse gefunden. Nahezu sämmtliche Zellen waren am Ende des Versuches noch roth gefärbt und blieben nun, nachdem die Diffusionszelle herausgenommen war, noch während fünf Stunden in der Lösung, ohne eine merkliche Veränderung erkennen zu lassen. Ebenso verhielten sich die übrigen Präparate.

Als Controle wurden jetzt frische Schnitte derselben Blattscheide in die 1,13 Aeq. Oxalsäure enthaltende Flüssigkeit gebracht. Nach einer halben Stunde waren sämmtliche Protoplaste zu Kugeln contrahirt, nachher dehnten sie sich wieder aus und starben dabei innerhalb weniger Stunden.

Eine weitere Controle ergab, dass eine Oxalsäure-Lösung von

0,4 Aeq. (1,8 pCt.) bereits im Stande ist, die rothen Zellen der *Curcuma rubricaulis* zu plasmolysiren. Durch langsames Zunehmen der Concentration war die sonst zur Plasmolyse erforderliche Grenze in unserem Versuch also ganz bedeutend überschritten, ohne dass Ablösung der Protoplaste stattgefunden hatte.

Während der ganzen Versuchsdauer hatten die Zellen ihre ursprüngliche Farbe ohne merkliche Veränderung der Intensität beibehalten; ihre Protoplaste waren also, wenn auch theilsweise getödtet, noch für den Farbstoff impermeabel.

In derselben Weise gelang es mir, das Eindringen von Citronensäure und Aepfelsäure in die rothen Oberhautzellen der Blattscheide von *Curcuma rubricaulis*, und von Oxalsäure in die rothen Parenchymzellen der Blattstiele von *Begonia Rex* zu veranlassen. Es wurde mit ersterer Säure eine Concentration von 0,83 Aeq. (5,3 pCt.), mit der zweiten 1,09 Aeq. (7,3 pCt.), und im dritten Versuche 0,72 Aeq. (3,2 pCt.) erreicht, ohne dass Plasmolyse eintrat und ohne dass der Farbstoff des Zellsaftes hinausdiffundirte. Präparate zur Controle plötzlich in diese Lösungen gebracht, zeigten darin in kurzer Zeit eine Contraction ihrer Zelleninhalte bis auf die Hälfte oder noch weniger des Zellenraumes.

Das Ausbleiben der Plasmolyse im Hauptversuche beweist, dass die osmotische Kraft der Zellsäfte, welche anfangs offenbar geringer war als die einer Oxalsäurelösung von 0,4 Aeq., allmählig derart zugenommen war, dass sie am Ende sogar grösser war, als die einer Oxalsäurelösung von 1,1 Aeq. Es kann dieses nun, unter den gegebenen Bedingungen, nur auf eine Aufnahme von Oxalsäure aus der äusseren Lösung beruhen, und zwar muss diese wenigstens zu einem Gehalte von 1,1—0,4 = 0,7 Aeq. (3 pCt.) in den Zellsaft eingedrungen sein.

Durch das langsame Eindringen des Reagens wird also die schwächste, sonst zur Plasmolyse erforderliche Concentration, die „plasmolytische Grenzlösung" [1]), weit überschritten, ohne dass die Plasmaschläuche von der Zellhaut abgelöst werden. Solches kann nun offenbar nur dann der Fall sein, wenn die Protoplaste für das betreffende Reagens permeabel geworden sind. Sind die Zellen dagegen völlig gesund und normal, und die angewandten Lösungen unschädlich, so muss es völlig gleichgültig sein, ob das Reagens rasch oder langsam in die Zellen eindringt. Mit anderen Worten, man wird in Versuchen mit langsam steigender Concentration ge-

1) *Opera II*, S. 153.

nau dieselbe plasmolytische Grenzlösung finden müssen, wie beim plötzlichen Eintauchen der Präparate in die Lösungen.

Die Vergleichung der Werthe, welche man auf beiden Wegen — langsames Steigen der Concentration und plötzliches Eindringen in die fertige Lösung — für die plasmolytische Grenzlösung erhält, wird also ein Mittel sein, um zu entscheiden, ob die betreffenden Protoplaste für das gewählte plasmolytische Reagens merklich permeabel sind oder nicht. Und je langsamer man die Concentration in dem einen Falle steigen lässt, um so genauer wird das Resultat sein.

Die frühere Methode beurtheilte die Permeabilität der Protoplaste nach dem Eintreten oder Ausbleiben einer nachträglichen Ausdehnung im möglichst schwach plasmolysirten Zustand; die jetzige nach dem Eintreten oder Ausbleiben der Plasmolyse selbst. Die Erscheinung ist im letzteren Falle also eine einfachere; sie ist unabhängig von den Bedingungen, welche im Schlauche die Fähigkeit erhalten, durch einen geringen Ueberschuss der osmotischen Kraft des Zellsaftes ausgedehnt zu werden.

§ 2. Versuche.

Nach der beschriebenen Methode habe ich nun eine Reihe von Versuchen mit den entsprechenden Controle-Versuchen ausgeführt. Ehe ich zu deren Beschreibung übergehe, will ich aber die der Methode zu Grunde liegenden Betrachtungen in kurzen Worten zusammenfassen.

Da gesundes Protoplasma für neutrale Salzlösungen in kurzen Zeiten nicht merklich permeabel ist, so muss es bei plasmolysirenden Lösungen völlig gleichgültig sein, mit welcher Geschwindigkeit das Salz in die Zellen eindringt. Ob man die Präparate plötzlich in die Lösung eintaucht oder diese zu den in Wasser liegenden Zellen nur ganz langsam zufliessen lässt, in beiden Fällen muss der erste Anfang der Plasmolyse sich bei genau derselben Concentration erkennen lassen. Ist aber der Protoplast nicht mehr normal, sondern durch irgend eine Ursache für das Salz permeabel gemacht, so muss sich ein Unterschied zwischen beiden Versuchen herausstellen. Denn beim langsamen Zufliessen der Lösung wird nun Salz in den Zellsaft übertreten, dessen osmotische Kraft vergrössern, und somit den Unterschied zwischen der äusseren Lösung und dem Zellsaft vermindern. Es wird demzufolge die zur Plasmolyse erforderliche Concentration der Salzlösung, nach Einwirkung eines

Giftes, bei allmähliger Zunahme höher liegen, als beim plötzlichen Einbringen in die fertige Lösung. Umgekehrt beweist ein solcher Unterschied der fraglichen Concentrationen, dass das Protoplasma für das Salz permeabel geworden ist, während es weder den Farbstoff des Zellsaftes noch auch die übrigen Inhaltsbestandtheile der Vacuole entweichen lässt.

In einer ersten Versuchsreihe liess ich die Concentration des neutralen Salzes in vier bis fünf Stunden von Null bis wenig über die niedrigste, zur Plasmolyse erforderliche Grenze steigen, indem ich in der S. 430 beschriebenen Weise das Salz aus einer Diffusionszelle dem Wasser, in welchem die Präparate lagen, zuströmen liess. Diese Zellen waren in allen Versuchen von derselben Grösse; ihre aus Pergamentpapier gebildete Membran hatte stets einen Durchmesser von 5,5 cm. Das Volum der äusseren Flüssigkeit, welche anfangs stets destillirtes Wasser war, war in allen Versuchen 100 CC, die Flüssigkeit bildete in den flachen Schalen eine etwa 1 cm hohe Schicht, in der die Präparate möglichst weit von der Membran des Diffusionsgefässes entfernt lagen. Das Herausnehmen der an einem Pferdehaar befestigten Präparate und der zur Titration erforderlichen Proben geschah in der oben (S. 430) mitgetheilten Weise.

Es wurden zu diesem Versuche die Oberhautzellen der Blattscheide von *Curcuma rubricaulis* und der neben dem breiten Hauptnerven liegenden Theile der Blattunterseite von *Tradescantia discolor* gewählt, und zwar lag für beide Blätter die plasmolytische Grenzlösung ungefähr bei 0,15 Aeq. der beiden benutzten Salze, welche unter sich isotonisch sind. In diesen beiden Lösungen wurden von jeder Art in 1½ Stunden etwa die Hälfte der Zellen eines jeden Präparates plasmolysirt, in 0,1 Aeq. trat keine, in 0,2 Aeq. in allen Zellen Plasmolyse ein. Es galt also, die Concentration der äusseren Lösungen soweit steigen zu lassen, bis jene Grenze gerade erreicht, oder doch nur um ein Geringes überschritten war.

In die Tabelle habe ich aus den von Zeit zu Zeit vorgenommenen Gehaltsbestimmungen und mikroskopischen Prüfungen nur je eine aufgenommen, und zwar je die erste, bei der die beim plötzlichen Eintauchen zur Plasmolyse erforderliche Concentration erreicht oder überschritten war. Die Dauer der Versuche bis zu diesem Augenblicke ist in der fünften Spalte aufgeführt worden. In der letzten Spalte bedeutet nach S. 401 3,4, dass die Hälfte der Zellen, 3 dass sie sämmtlich plasmolysirt waren.

Tabelle über den Einfluss einer allmähligen Zunahme der Concentration von neutralen Salzlösungen auf die Plasmolyse.

Arten.		Salz.	Inhalt der Diffusionszelle		Versuchsdauer in Stunden.	Erreichte Concentration in Aeq.	Grösse der Prot. am Ende
			Vol. in CC	Conc. in Aeq.			
Curcuma rubricaulis	I	NaCl	200	0,5	5	0,14	3,4
	II	NaCl	100	1,0	4	0,18	3
	III	KNO_3	200	0,5	5	0,18	3
Tradescantia discolor	I	NaCl	100	1,0	4	0,18	3
	II	KNO_3	200	0,5	5	0,18	3

In einer zweiten Reihe versuchte ich das Eindringen des Salzes noch langsamer zu machen. Ich habe dazu in die weite, aber nur etwa 200 CC fassende Diffusionszelle eine mit derselben Lösung gefüllte Literflasche umgekehrt eingetaucht; es hatte diese Einrichtung den Vortheil, dass die Concentration der Lösung niedrig gehalten werden konnte und dass dennoch der Druck auf die Membran nicht durch das grössere Volum der Lösung vergrössert wurde. Ich benutzte übrigens dieselben Diffusionszellen und genau dieselbe Einrichtung wie in dem vorigen Versuch. Auch das Material war dasselbe und die dortigen Angaben über die plasmolytische Grenzlösung gelten also auch für diesen Versuch. Beide Reihen wurden im Januar 1882 ausgeführt.

Die Resultate enthält die folgende Tabelle. Das Volum der Lö-

Tabelle über den Einfluss einer äusserst langsam steigenden Concentration von neutralen Salzlösungen auf die Plasmolyse.

Arten.		Salz.	Erreichte Conc. in Aeq.	Grösse der Protoplaste am Ende.	Grösse der Protoplaste in der Controle.
Curcuma rubricaulis	I	NaCl	0,21	3	3
	II	KNO_3	0,23	3	3
Tradescantia discolor	I	NaCl	0,21	3	3
	II	KNO_3	0,23	3	3

sung in der Diffusionszelle war in allen Versuchen 1400 CC, ihre Concentration stets 0, 25 Aeq. Das Volum der äusseren Flüssigkeit,

welche anfangs destillirtes Wasser war, war 100 CC, die Versuche dauerten sämmtlich 20 Stunden, die in dieser Zeit erreichte Concentration der äusseren Lösung ist in die dritte Spalte, der gleichzeitig beobachtete Grad der Plasmolyse in die vierte Spalte eingetragen. Am Ende des Versuches wurden einige CC der äusseren Flüssigkeit in der Nähe der Präparate entnommen und mit frischen Schnitten beschickt; diese zeigten nach 1½ Stunden den in der letzten Spalte verzeichneten Grad der Plasmolyse (3 = alle Zellen plasmolysirt).

In den beiden Versuchen mit der letzteren Art waren in jedem Präparate, sowohl des Haupt- als des Controleversuchs, einzelne Zellen ohne Plasmolyse geblieben.

Die mitgetheilten Versuche zeigen ohne Weiteres, dass die zur Plasmolyse erforderliche niedrigste Concentration von der Geschwindigkeit der Einwirkung des Salzes völlig unabhängig ist. Zumal in der zweiten Versuchsreihe, wo erst in zwanzig Stunden ein Gehalt von 0,21—0,23 Aeq. (etwa 1,3 pCt. NaCl und 2,2 pCt. KNO_3) erreicht wurde, ist dieses Resultat besonders schlagend. Neutrale Salze lassen die Protoplaste also in so kurzer Zeit nicht in merklicher Menge durch.

Als Controle zu den vorstehenden Versuchsreihen habe ich nun gleichzeitig mit denselben Objecten und denselben Salzen einige weitere Versuche nach der beschriebenen Methode angestellt, in denen aber durch den Zusatz einer giftigen Substanz das äussere Protoplasma permeabel gemacht worden war. Als Gifte benutzte ich theils Basen, theils Säuren. Wie zu erwarten, ergaben diese Experimente ganz andere Resultate wie die mit den neutralen Lösungen.

Von meinen in dieser Richtung mit Basen gemachten Versuchen führe ich als Beispiel den folgenden an: Eine Diffusionszelle mit einer Membran aus Pergamentpapier von 5cm Durchmesser hing in einer flachen Schale mit 100 CC Wasser, welches 0,025 Aeq. Ammoniak enthielt. In die Zelle brachte ich 100 CC einer Lösung von Kalisalpeter, welche durch Zusatz von Ammoniaklösung auf denselben Gehalt an Base gebracht war, als die äussere Flüssigkeit. Eine möglichst kleine Glasglocke bedeckte den ganzen Apparat und verhinderte das Entweichen des Ammoniaks; eine Controle am Ende des Versuchs bestätigte, dass die Basicität sich nicht merklich verändert hatte. In die äussere Flüssigkeit wurden mehrere Präparate von *Tradescantia discolor* gebracht, das grösste war an einem Pferdehaar befestigt und wurde viermal herausgenommen und unter-

sucht, in keinem Falle zeigte sich auch nur eine Spur von Plasmolyse. Gleichzeitig mit diesen vier Beobachtungen wurde die Concentration der äusseren Lösung bestimmt. Sie erreichte 3½ Stunden nach Anfang des Versuchs 0,27 Aeq., zwei und eine halbe Stunde später 0,37 Aeq., noch zwei Stunden später 0,42 Aeq. und nach 22 Stunden 0,52 Aeq. (5,2 pCt.). Jetzt wurde der Versuch als abgeschlossen betrachtet, in sämmtlichen Präparaten waren noch alle Zellsäfte schön blau (statt violett) gefärbt und ohne Spur von Plasmolyse. Fünf und eine halbe Stunde nach Anfang des Versuches, als die Concentration also noch nicht 0,37 Aeq. erreicht hatte, wurde eine Probe aus der äusseren Flüssigkeit herausgenommen und mit frischen Präparaten beschickt. Diese zeigten nach einer halben Stunde die Protoplaste bis auf etwa die Hälfte des Zellenraumes contrahirt.

Ich folgere also: durch geringen Zusatz von Ammoniak gelingt es, die zur Plasmolyse erforderliche Concentrationsgrenze des Salpeters, bei langsam zunehmendem Gehalte, ganz bedeutend zu erhöhen. Dadurch ist aber bewiesen, dass das Ammoniak die Protoplaste in hohem Maasse für das Salz permeabel macht.

Zu den Versuchen mit freien Säuren als Giften benutzte ich vorzugsweise die rothen Oberhautzellen aus der Blattscheide von *Curcuma rubricaulis*, im Uebrigen aber wurden sie mit denselben Apparaten und in jeder Hinsicht in derselben Weise angestellt, wie die soeben beschriebenen. Die äussere Lösung war auch hier stets 100 CC destillirtes Wasser, die Säure wurde aber mit dem Salze in die Diffusionszelle gebracht und strömte also den Präparaten nur langsam zu. Volumen und Zusammensetzung der in die Diffusionszellen gebrachten Lösungen sind in den Tabellen am Kopfe jedes einzelnen Versuches eingetragen.

Da es in diesen Versuchen stets ganz besonders wichtig ist, zu zeigen, dass in keinem Augenblicke eine Plasmolyse stattgefunden hat, so habe ich für jeden Versuch fünf verschiedene mikroskopische Beobachtungen mit den zugehörigen Bestimmungen des Gehalts an freier Säure und an Salz mitgetheilt. Gleichzeitig mit der vierten Beobachtung, also 8½ Stunden nach Anfang des Versuchs wurde aus jedem Versuch eine Probe der äusseren Flüssigkeit in der Nähe der Präparate vorsichtig herausgenommen, in ein Uhrgläschen gebracht und mit frischen Präparaten desselben Pflanzentheiles beschickt. Das nach einer halben Stunde erhaltene Resultat ist jedesmal in der letzten Zeile verzeichnet.

Im dritten Versuch wurde in die Diffusionszelle eine kleinere,

mit Pergamentpapier verschlossene und mit festem Chlornatrium angefüllte Zelle aufgehängt, um den Verlust an Salz in der grösseren Zelle allmählig zu ersetzen; es wurde dadurch am Ende des Versuchs eine grössere Concentration der äusseren Flüssigkeit erreicht, als sonst der Fall gewesen sein würde.

Die Concentration ist nach Aequivalenten angegeben (0,1 Aeq. KNO_3 = 1,01 pCt; 0,1 Aeq. NaCl = 0,585 pCt.); der Grad der Plasmolyse durch die Zahlen 2, 3 und 4, welche anweisen, dass die Protoplaste 2, 3 oder 4 Viertel des Zelllumens erfüllen (vgl. S. 401). Jedes Präparat enthielt mehrere Hunderte von Zellen, diese wiesen aber fast ohne Ausnahme denselben Grad von Plasmolyse auf.

Tabelle über den Einfluss der allmähligen Zunahme der Concentration der Salz- und Säurelösungen auf die Plasmolyse von Curcuma rubricaulis.

I. Salpeter und Salpetersäure.

Zeitpunkte der Beobachtungen nach Anfang der Versuche.	Versuch I. Inhalt der Zelle: 1 Aeq. KNO_3 + 0,2 Aeq. HNO_3 200 CC.			Versuch II. Inhalt der Zelle: 0,5 KNO_3 + 0,2 HNO_3 100 CC.		
	KNO_3	HNO_3	Grösse d. Prot.	KNO_3	HNO_3	Grösse d. Prot.
2 Stunden	0,17	0.08	4	0,10	0,08	4
5 „	0,27	0,11	4	0,17	0,11	4
6 „	0,43	0,13	4	0,21	0,12	4
8.30 „	0,58	0,14	4	0,23	0,12	4
20.15 „	0,64	0,14	4	0,25	0,13	4
Controle bei halbstündigem Aufenthalt in:	0,58	0,14	2	0,23	0,12	3

II. Kochsalz und Salzsäure.

Zeitpunkte der Beobachtungen nach Anfang der Versuche.	Versuch III. Inhalt der Zelle: 1 Aeq. NaCl + 0,2 HCl 200 CC.			Versuch IV. Inhalt der Zelle: 1 Aeq. NaCl + 0,2 HCl 100 CC.		
	NaCl	HNO_3	Grösse d. Prot.	NaCl	HCl	Grösse d. Prot.
2 Stunden	0,14	0,09	4	0,10	0,07	4
5 „	0,21	0,13	4	0,17	0,09	4
6 „	0.37	0,15	4	0,28	0,10	4
8.30 „	0,51	0,15	4	0,34	0,10	4
20.15 „	0,74	0,15	4	0,45	0,10	4
Controle bei halbstündigem Aufenhalt in:	0,51	0,15	2	0,34	0,10	2

Die Tabellen zeigen, dass beim langsamen Zufliessen der sauer gemachten Salzlösungen auch bei solchen Concentrationen des Salzes keine Plasmolyse stattfindet, welche viel höher liegen als die beim plötzlichen Einbringen dazu erforderliche Grenze. Die Säure macht die Protoplaste somit permeabel für die Salze.

Eine Wiederholung desselben Versuches mit weniger Salzsäure (0,1 Aeq. HCl und 1,0 Aeq. NaCl) gab dasselbe Resultat. Nach 18 Stunden zeigten die Oberhautzellen der *Curcuma* in einer Lösung von 0,56 Aeq. NaCl und 0,07 Aeq. HCl keine Spur von Plasmolyse.

Eine Wiederholung mit einer Mischung von neutralem oxalsaurem Kali und freier Oxalsäure, also mit saurem oxalsaurem Kali, unter denselben Versuchsbedingungen angestellt, gab gleichfalls dasselbe Resultat. Nach 23 Stunden war die Acidität der äusseren Lösung 0,22 Aeq., ihr Gehalt an Kali 0,24 Aeq., also der Gesammtgehalt an saurem oxalsaurem Kali 0,46 Aeq., ohne dass weder vorher noch jetzt eine Spur von Plasmolyse in den Zellen der *Curcuma rubricaulis* zu entdecken gewesen wäre. Beim plötzlichen Einbringen frischer Schnitte in diese Lösung zeigte sich die Plasmolyse schon nach einer halben Stunde in allen Zellen, ebenso in einer neutralen Lösung von 0,25 Aeq. oxalsaurem Kali, also demselben Gehalt an neutralem Salz wie die in dem Hauptversuch erreichte. Dagegen war eine 0,2 Aeq. enthaltende Lösung freier Oxalsäure nicht im Stande, die Zellen zu plasmolysiren.

Somit erhöht auch Oxalsäure die Permeabilität der Protoplaste, indem sie diese langsam tödtet, für oxalsaures Kali, wenn auch selbstverständlich in viel schwächerem Grade wie Salzsäure für Kochsalz oder Salpetersäure für Salpeter. Hier, wie bei allen früheren Versuchen dieses Paragraphen blieb das Protoplasma während der ganzen Versuchsdauer impermeabel für den Farbstoff des Zellsaftes.

Wenn man die Diffusionsapparate und das damit unvermeidlich verbundene Titriren der Flüssigkeiten umgehen will, so kann man die Zunahme der Concentration dadurch bewirken, dass man die Präparate nach und nach in Lösungen höherer, mit geringen Differenzen steigender Concentration bringt. Nach dieser Methode habe ich mehrfache Versuche und zum Theil mit günstigem Erfolg angestellt, aber dennoch kann ich sie nicht empfehlen, da der häufige Wechsel der Flüssigkeiten für die Präparate meist in hohem Grade schädlich ist.

Die in diesem Paragraphen mitgetheilten Versuche bestätigen also, nach einer neuen Methode:

1. dass gesunde Protoplaste auch für rasch diffundirende Salze wie Kalisalpeter und Chlornatrium, wenn diese als plasmolytische Reagentien angewandt werden, nicht merklich permeabel sind;
2. dass die durch Säuren oder Basen veränderten, aber für Farbstoffe noch nicht permeablen Protoplaste (resp. ihre Vacuolenwände) diese Salze in kurzen Zeiten in ansehnlicher Menge durch sich hindurchgehen lassen.

Figuren-Erklärung.

Tafel I.

Spirogyra nitida.

Sämmtliche Zellen aus einer Aquariumcultur genommen und in zehnprocentiger, mittelst Eosin schwach roth gefärbter Kalisalpeterlösung untersucht. Die gestorbenen Chlorophyllbänder haben sich mit dem Farbstoffe braun, das todte Protoplasma roth gefärbt, während der Zellenraum, ausserhalb des Protoplasten, durch die eingedrungene Lösung blass tingirt, und mit zahlreichen feinen roth gewordenen Körnchen, welche aus dem gestorbenen Protoplasma herausgetreten sind, erfüllt sind. Die farblosen Blasen sind die von ihrer lebendigen Wandung umschlossenen Vacuolen. Die Chlorophyllbänder waren in dieser Cultur steil gewunden, sehr blass grün gefärbt, unscharf berandet und äusserst reich an grossen und kleinen Stärkekörnern. 310/1. In allen Figuren bedeutet:

v = Vacuole.
p = Protoplasma.

Fig. 1. Normale Plasmolyse nach halbstündiger Einwirkung des Salzes. Der ganze Protoplast hat sich zu einem ellipsoidischen Körper zusammengezogen, in welchem man deutlich den Zellkern und die Amylonkerne sieht. Farbstoff ist nicht eingedrungen und feinkörnige Substanz nicht ausgetreten. Von den zahlreichen feinen Fäden, welche das Protoplasma an die Wand verbinden, sind nur einige in die Zeichnung eingetragen.

Fig. 2. Eine ähnliche Zelle nach mehrstündiger Einwirkung. Das äussere Protoplasma und die Chlorophyllbänder sind gestorben, mehr oder weniger contrahirt und haben Farbstoff aufgespeichert.

Die Vacuole tritt in Folge jener Contraction etwas hervor; ihre Wandung und ihr Inhalt sind ungefärbt, erstere glatt und sichtlich gespannt.

Fig. 3. Aehnlicher Zustand, das Protoplasma stärker contrahirt, wodurch die Vacuolen mehr heraustreten.

Fig. 4. Eine Vacuole völlig herausgetreten.

Fig. 5. Zwei Vacuolen aus dem Protoplasma isolirt.

Fig. 6. Aehnlicher Zustand, aber das Protoplasma völlig contrahirt und desorganisirt; die Chlorophyllkerne stark aufgequollen. An der unteren Vacuole haftet äusserlich noch todtes Protoplasma.

Fig. 7. Eine beim Präpariren geknickte Zelle, nachdem sie behufs des Zeichnens wieder nahezu gerade gebogen war. *A* sofort nach dem Geradestrecken. *B* während des Zeichnens von *A* war die Vacuole *β* allmählig ausgestossen und endlich völlig befreit worden.

Fig. 8. Das Protoplasma ist während der ersten Einwirkung des Salzes gestorben und hat sich dabei nicht contrahirt. Hautschicht und Chlorophyllbänder noch in der normalen Lage. Die Wandungen der Vacuolen sind aber lebendig geblieben, haben sich stark contrahirt und innerhalb des todten Protoplasma isolirt; sie haben nahezu Kugelform angenommen und wehren dem Farbstoff den Durchgang völlig.

Fig. 9. Das Protoplasma ist bei der ersten Einwirkung des Salzes gestorben und hat sich dabei ein wenig contrahirt. Die Vacuolenwandungen sind lebendig geblieben und haben sich viel später contrahirt.

Fig. 10. Aehnlicher Zustand. Contraction des Protoplasten etwas stärker.

Fig. 11. Aehnliche Zelle nach mehrstündigem Aufenthalt in der Lösung unter dem Deckglas. Die Wandungen der Vacuolen sind gestorben und haben sich etwas dunkler gefärbt als das übrige Protoplasma.

Tafel II.

In sämmtlichen Zellen bedeutet:

k = Zellkern.
v = Vacuole.

Die Präparate sind, mit Ausnahme der Fig. 10, in 10 pCt. Kalisalpeter plasmolysirt und mit Eosin gefärbt.

Fig. 1. *Vallisneria spiralis.* 230/1. Längsschnitt aus dem Pa-

renchym eines Blattes in eosinrother zehnprocentiger Kalisalpeterlösung. In der Zelle A hat sich das Protoplasma normal contrahirt und ist lebendig geblieben. In B ist die Hautschicht des Protoplasma nicht contrahirt, aber gestorben; Zellkern und Chlorophyllkörner liegen noch der Wand dicht an, sind aber vom Eosin gefärbt. Die Vacuolen sind zu grösseren und kleineren ungefärbten Kugeln mit glattem Umriss contrahirt.

Fig. 2. *Hyacinthus orientalis.* 310/1. Zellen aus der Oberhaut eines Zwiebelschuppen in derselben Lösung. Protoplasma todt, aber nicht contrahirt, Kern dunkelroth. Zahlreiche Vacuolen in jeder Zelle, farblos und meist kugelförmig.

Fig. 3. *Lomaria zamioides.* 310/1. Zelle aus der Epidermis der Blattoberseite. Das Eosin nicht ausgewaschen. Normale Plasmolyse, der aber der Tod des äusseren Plasma bald folgte. Zellkern und Chlorophyllkörner vom Eosin tief gefärbt. Vacuole ungefärbt.

Fig. 4. *Tradescantia virginica.* Zelle aus dem Haar eines Staubfadens aus einer noch geschlossenen Blüthe, in eosinrother zehnprocentiger Salpeterlösung. Protoplasma und Kern todt, ersteres ohne Contraction. Die Vacuole hat sich zu einer kugelförmigen Blase mit tiefblauem Inhalt zusammengezogen.

Fig. 5. *Ilex Aquifolium.* 310/1. Eine Zelle aus dem Fruchtfleische. Die Hautschicht nicht contrahirt, die Farbstoffkörner wandständig. Eine grössere und zahlreiche kleinere farblose Vacuolen haben sich im Innern contrahirt.

Fig. 6. *Tradescantia discolor.* 310/1. Zwei Zellen aus der violetten Oberhaut der Blattunterseite. Das Eosin wurde vor dem Zeichnen ausgewaschen. Die Protoplaste sind contrahirt, in B noch durch zahlreiche feine Fäden mit der Zellhaut verbunden. Protoplasma und Zellkern roth gefärbt. Der Inhalt der Vacuolen ist dunkelviolett und hat offenbar von seinem Farbstoff noch nichts verloren.

Fig. 7. *Agave americana.* 310/1. Eine Zelle aus der nächsten Umgebung eines Gefässbündels im Blattparenchym. Das Eosin nicht ausgewaschen. Das Protoplasma hat sich contrahirt, ist aber mit sammt dem Kern gestorben und gefärbt; die Vacuole kugelförmig und farblos.

Fig. 8. *Hydrocharis Morsus Ranae.* Theil eines in 10 pCt. Salpeter liegenden Wurzelhaares. Das äussere Protoplasma ist gestorben und durch Eosin gefärbt; es hat sich ein wenig contrahirt. Die Vacuole hat sich in zahlreiche Theile gespalten, deren drei in

der Figur sichtbar sind; sie sind meist kugelförmig, mit glatter Oberfläche und vom Eosin nicht gefärbt.

Fig. 9. *Pachyphytum bracteatum.* 160/1. Zelle aus dem Blattparenchym. Die Hautschicht ist nicht contrahirt, Kern und Chlorophyllkörner noch wandständig, aber vom Eosin gefärbt. Die Vacuole ist zu einer farblosen Kugel contrahirt.

Fig. 10. *Allium Cepa.* 310/1. Längsschnitt aus dem Parenchym eines blatttragenden Zwiebelschuppen. Zellen mit normaler Plasmolyse in 25procentiger Rohrzuckerlösung (isotonisch mit 5 pCt. KNO_3) im optischen Durchschnitt. Das äussere Protoplasma und der Zellkern noch lebendig, vom Eosin nicht gefärbt. Die Hautschicht hat Kugelform und ist somit stärker gespannt als die Wand der Vacuole; der Kern ragt in diese letztere hinein.

Fig. 11. *Allium Cepa.* 310/1. Aehnliche Zellen wie in der vorigen Figur, jedoch in zehnprocentiger Salpeterlösung. Das Eosin war ausgewaschen. Anfangs normal plasmolysirt, aber Zellkern und Protoplasma bald gestorben und dunkel gefärbt; die Vacuolen noch kugelförmig, farblos und mit gespannter Wandung.

Tafel. III.

Fig. 1. *Tradescantia discolor.* 180/1. Eine Zelle der violetten Epidermis der Blattunterseite.

A. Nach 1½ stündigem Aufenthalt in einer Salpeterlösung von 0,4 Aeq. Zellsaft von normaler Farbe. Aeusseres Protoplasma und Kern lebendig. Jetzt wurde unter dem Mikroskop eine gleich starke Salpeterlösung, welche ausserdem 0,1 Aeq. Salpetersäure enthielt, zugesetzt.

B. Dieselbe Zelle, 4 Minuten nach angefangener Wirkung der Säure. Kern todt, contrahirt, Zellsaft roth. Die Vacuole dehnt sich aus. Ihre Grösse nach 6, 7, 11 und 18 Minuten ist durch unterbrochene Linien angegeben.

C. Dieselbe Zelle, 20 Minuten nach angefangener Wirkung der Säure. Der Kern hat sich mit dem Farbstoff der umliegenden jetzt gestorbenen Zellen roth gefärbt. Gleich nachdem die Zeichnung fertig war, platzte die Wand der Vacuole, stiess ihren Inhalt aus und schrumpfte zusammen.

D. Dieselbe Zelle, fünf Minuten später, völlig entfärbt und mit zusammengeschrumpftem Inhalt.

Fig. 2. *Beta vulgaris rubra.* Zelle aus dem rothen Parenchym

der fleischigen Wurzel, in 10 pCt. Chlornatrium unter dem Mikroskop langsam erwärmt.

A. Bei 36° C. bildeten sich auf dem vorher glatten Aussenrande des kugelig contrahirten Protoplasten hyaline Ausstülpungen.

B. Gleich nachher bildete sich bei a eine, vom rothen Zellsaft gefüllte, etwas grössere, dünnwandige Ausstülpung, welche an ihrem Gipfel bald platzte, worauf der Protoplast sich stossweise contrahirte und den Zellsaft ausstiess. Die punktirte Linie weist den Umfang des Protoplasten nach der Contraction an.

Fig. 3. *Curcuma rubricaulis.* 230/1. Zellen aus der rothen Oberhaut der Blattscheide in Salpeterlösungen, nach 1—2 stündiger Einwirkung.

A. In 0,12 Aeq. KNO_3. Keine Plasmolyse.

B. In 0,13 Aeq. KNO_3. Alle Zellen schwach plasmolysirt.

C. In 0,14 Aeq. KNO_3. Stärkerer Grad der Plasmolyse.

Fig. 4. *Spirogyra nitida.* 310/1. Eine Zelle, welche sechs Tage in zehnprocentiger Salpeterlösung verweilt hat und nachher in dieser Lösung mit Eosin gefärbt wurde. Das Protoplasma ist längst contrahirt und gestorben, die Vacuole ist zum Theil ausgetreten und beim langsamen Tode völlig erstarrt, ohne jegliche Contraction. Beim Präpariren wurde die Vacuolenwandung durch einen Druck auf die Zellhaut derart verletzt, dass sie einen Riss bekam. Man sieht die doppelte Contour dieses Organes.

Fig. 5. *Tradescantia discolor.* 180/1. Zellen aus der violetten Oberhaut der Blattunterseite, nach fünftägigem Aufenthalt in einer Rohrzuckerlösung von 10 pCt. Hautschicht und Kern gestorben, die Wand der Vacuole noch impermeabel für den Farbstoff des Zellinhalts.

A. B. C. Die Vacuolen haben kleine Ausstülpungen hervorgetrieben, ihre Wand ist mehr oder weniger runzlig.

D. E. Die Hautschicht in Fetzen zerrissen, welche Einschnürungen (a) in der noch gespannten Wand der Vacuolen bewirkten. D mit drei, E mit einer derartigen Einschnürung.

Die Figur ist insoweit schematisch, als die fünf Zellen nicht neben einander, sondern im Präparat zerstreut lagen.

Fig. 6. *Tradescantia discolor.* 230/1. Eine Zelle aus demselben Gewebe, welche aus 0,5 Aeq. Chlorcalcium nach einer Stunde in eine Lösung von 0,5 Aeq. Chlorcalcium + 0,1 Aeq. Salzsäure

übertragen war und drei Stunden später gezeichnet wurde. Der violette Zellsaft von der Säure roth gefärbt. Die Vacuole hat blasige Ausstülpungen gebildet, welche eine glatte gespannte Oberfläche haben. Zellkern und Hautschicht gestorben, mit runzeliger Oberfläche.

Fig. 7. *Tradescantia discolor*. 180/1. Zwei Zellen aus demselben Gewebe nach 14tägigem Aufenthalt in Rohrzuckerlösung von 5 pCt. Man sieht die todten Zellkerne. Die Vacuolen mit unregelmässig faltiger Wand, ihr Inhalt in A dunkelviolett, in B nur noch blassviolett.

Tafel IV.

Spirogyra nitida.

Vergrösserung von Fig. 1—4 und 7: 180/1, von Fig. 5, 6 und 8: 230/1.

v = Vacuole.

k = Zellkern.

Fig. 1. Eine Zelle in 10 pCt. Salpeterlösung.

A. Wenige Minuten nach angefangener Einwirkung des Salzes hat sich die Vacuole als Ganzes aus dem gestorbenen äusseren Protoplasma befreit. Sie ist farblos und mit gespannter Wandung, das übrige Protoplasma ist stark contrahirt, grün.

B. Die Vacuole hat sich getheilt.

C. Dieselbe Zelle. Die beiden Hälften haben sich abgerundet.

Fig. 2. Eine Zelle aus einer schlecht beleuchteten Cultur. Normale Plasmolyse in 10 pCt. Salpeterlösung.

Fig. 3. Eine Endzelle aus derselben Cultur, welche in 0,00002 Aeq. Quecksiberchlorid gestorben war. Das Protoplasma hat sich ein weinig contrahirt und grössere und kleinere Falten gebildet.

Fig. 4. Osmiumsäure-Präparat. Eine Zelle, in 10 pCt. Salpeterlösung gebracht. Das äussere Protoplasma ist gestorben und nur wenig contrahirt. Die Vacuole hat sich in vier Kugeln getheilt, von denen die beiden oberen noch durch einen hohlen Strang verbunden sind. In diesem Moment war die Zelle mittelst Osmiumsäure fixirt. Der gerbstoffhaltige Zellsaft war mit tiefschwarzer Farbe in dichten Körnern niedergeschlagen worden.

Fig. 5. Gerbstoffreaction. Einer in 10 pCt. Salpeterlösung plasmolysirten Zelle, deren Protoplast gestorben und contrahirt war, deren beide Vacuolen noch lebten, wurde Eisenchlorid zugesetzt. Nach einiger Zeit drang diese in die Vacuolen ein und gab daselbst mit dem Gerbstoff des Zellsaftes einen blauen Niederschlag.

Fig. 6. Gerbstoffreaction. Eine Zelle in 10 pCt. Salpeterlösung, welche essigsaures Eisen enthielt. Das Protoplasma contrahirte sich und starb, die Vacuole zog sich zu zwei glänzenden farblosen Kugeln zusammen. Jetzt wurde das Präparat unter dem Mikroskope langsam erwärmt, bis die eine Vacuole (*v'*) an zwei Stellen platzte. Vor den Rissen entstand ein dichter dunkelblauer Niederschlag von gerbsaurem Eisen. Die Vacuole contrahirte sich ein wenig. Die andere Vacuole v war während des Zeichnens noch lebendig.

Fig. 7. Eine Zelle in 10 pCt. Salpeterlösung normal plasmolysirt: A. Man sieht zwei Vacuolen durch einen grünen Plasmastrang verbunden. Jetzt wurde die Zelle unter dem Mikroskop langsam und vorsichtig erwärmt, ohne die Temperaturgrenze des Lebens zu erreichen. Der Plasmastrang contrahirte sich langsam und erreichte in etwa fünf Minuten den in B abgebildeten Zustand.

Fig. 8. Eine Zelle in 10 pCt. Salpeterlösung. Zwei Vacuolen haben sich vom grünen gestorbenen Plasma völlig isolirt; stellenweise haften ihnen äusserlich noch Reste gestorbenen Plasmas an. Zwei andere Vacuolen sind zum Theil im todten Protoplasten verborgen.

A. Nach einstündigem Aufenthalt in der Salpeterlösung.

B. Dieselbe Zelle. Die Salpeterlösung unter dem Mikroskop mit Wasser ausgesüsst. Ich sah die beiden grösseren Vacuolen platzen und zusammenschrumpfen und zeichnete sie, nachdem die Contraction beendet war. Die beiden kleineren Vacuolen völlig verschwunden, ihre Reste im todten Protoplasma verborgen.

(*Pringsheim's Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik Band XVI, Heft 4, S. 464, 1885*).

Fig. 1. Fig. 2. Fig. 3. Fig. 4. Fig. 5. Fig. 6. Fig. 7 A. Fig. 7 B. Fig. 8. Fig. 9. Fig. 10. Fig. 11.

Fa. P. W. M. Trap impr.

Fig. 1.
k
A
v
B
v
k
v

Fig. 2.
v
k
k
v

Fig. 3.

Fig. 4.
v
k

Fig. 5.
k
v
v

Fig. 6.
B.
k
A.

Fig. 7.
k

Fig. 8.
v
v
v

Fig. 9.

Fig. 10.
k
v

Fig. 11.
v
k

Hugo de Vries, Opera

Fa. P. W. M. Trap impr.

Fig. 1 A.

Fig. 1 B.

4 m
6 m
7 m
11 m
18 m

Fig. 2 A.

Fig. 2 B.

a

Fig. 1 C.

Fig. 1 D.

Fig. 3 A.

Fig. 3 B.

Fig. 3 C.

Fig. 4.

a

Fig. 5.

A
D
a
B.
C
E
a

Fig. 6.

k

Fig. 7.

B
k
A
k

Fa. P. W. M. Trap impr.

Fig. 1. A. B. C.

Fig. 2.

Fig. 3. k

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 6. v t v'

Fig. 7. A. B.

Fig. 8. A. B.

HUGO DE VRIES, Opera. Fa. P. W. M. TRAP impr.

UEBER DIE AGGREGATION IM PROTOPLASMA VON DROSERA ROTUNDIFOLIA.

Hierzu eine Tafel.

In mehreren früheren Aufsätzen, und namentlich in einer grösseren Arbeit über die Wand der Vacuolen (*Opera II*, S. 321), habe ich den Nachweis zu liefern versucht, dass in Pflanzenzellen die Vacuolen eine eigene, aus lebendigem Plasma aufgebaute Wand besitzen. Ich benutzte dazu die merkwürdige Eigenschaft jener Wand, gegen gewisse schädliche Eingriffe weit resistenter zu sein, als die übrigen Theile desselben Protoplasten. Es gelang mir, durch einfache Mittel, z. B. durch eine 10procentige Lösung von Salpeter, das äussere Protoplasma zu tödten, ohne dass die Wand der Vacuolen dabei zunächst wesentliche Veränderungen erlitt. Nur contrahirte sie sich in Folge der wasserentziehenden Wirkung der Salzlösung, und wurde dadurch mehr oder weniger, und oft sehr vollständig, von dem übrigen, gestorbenen Protoplasma isolirt. Die Vacuolen sind in solchen Zellen meist als kugelige, freie Tropfen, von einer glatten, gespannten Wand umgeben, sichtbar; letztere ist für Farbstoffe und manche andere gelöste Verbindungen ebensowenig permeabel wie im normalen Leben, verliert aber diese Eigenschaft, sobald man sie, sei es durch Gifte, sei es durch Wärme oder in anderer Weise, tödtet.

Die angewandte Methode lässt aber die fraglichen Wände erst durch den Tod der übrigen Theile des Protoplasma sichtbar werden, und es leuchtet ein, dass sie, wenn auch vielleicht anfangs nicht merklich verändert, doch nie, in jenem isolirten Zustand, als völlig normal betrachtet werden können. Auch fallen sie selbstverständlich immer, sei es nach einigen Stunden, sei es nach einem oder mehreren Tagen, dem Tode anheim.

Es war für mich somit von der höchsten Wichtigkeit, mich nach Fällen umzusehen, in denen die Wände der Vacuolen im normalen Leben, ohne irgend welche schädliche Eingriffe, vom übrigen Protoplasma sich isoliren und dadurch sichtbar werden würden. Denn dadurch würden meine Beweise für den Satz, dass jene Wände auch im normalen Leben einen differenzirten Theil des Plasma bilden, offenbar sehr wesentlich verstärkt werden.

Einen solchen Fall habe ich nun in jenen Erscheinungen kennen

gelernt, welche Darwin im Protoplasma der insektenfressenden Pflanzen entdeckt und unter dem Namen der *Aggregation* beschrieben hat [1]). Seine „*aggregated* masses" sind nach meiner Erfahrung die Vacuolen, welche sich bedeutend verkleinert und oft mehrfach zertheilt haben, dabei aber stets von ihrer Wand umgeben geblieben sind. Bei der Aggregation haben die Vacuolen einen oft sehr grossen Theil ihrer Flüssigkeit ausgestossen, dieser liegt jetzt zwischen ihnen und dem strömenden Protoplasma, welches seine wandständige Lage nicht verloren hat. In Zellen mit gefärbtem Zellsaft ist die zwischen den verkleinerten Vacuolen und dem strömenden Plasma ausgestossene Lösung ungefärbt, daher heben sich in ihnen die Vacuolen mit so auffallender Schärfe als „aggregated masses" von ihrer Umgebung ab.

Obgleich Darwin zu wiederholten Malen die fraglichen Erscheinungen als Bewegungen des lebendigen Protoplasma bezeichnet, so hat doch diese Auffassung bei weitem nicht die ihr gebührende Anerkennung gefunden. Wenigstens findet man die Aggregation auch in den neuesten Lehrbüchern nicht unter den Protoplasmabewegungen aufgezählt. Vielleicht hat dazu eine andere, gleichfalls von Darwin gemachte Entdeckung beigetragen. Er fand nämlich, dass eines der bequemsten Reizmittel für jene Bewegungen, das kohlensaure Ammoniak, im Zellsaft der betreffenden Zellen einen Niederschlag von eiweissartigen Körpern hervorruft. Dieser, anfangs feinkörnige Niederschlag ballt sich allmählich zu grossen Kugeln zusammen, und dieses Zusammenballen wird von Darwin gleichfalls mit dem Namen Aggregation belegt. Spätere Forscher haben diesen Niederschlag ohne Zweifel häufig mit den fraglichen physiologischen Vorgängen verwechselt [2]).

Aus diesem Grunde schien es mir geboten, sowohl die eigentliche, physiologische Aggregation, als auch die Entstehung und das Zusammenballen jenes Niederschlags, einer ausführlichen Untersuchung zu unterwerfen, um dadurch ein möglichst vollständiges und klares Bild der ganzen Erscheinung geben zu können. Es wird sich, hoffe ich, zeigen, dass letztere eine solche Behandlung in hohem Grade verdient, und dass die Aggregation an wissenschaftlichem Interesse den schönsten, bis jetzt eingehender studirten Bewegungen des pflanzlichen Protoplasma keineswegs nachsteht.

1) Insectivorous Plants. Chapter III. Vergleiche auch: Fr. Darwin, The process of aggregation in the tentacles of *Drosera rotundifolia*. Microsc. Journal. Vol. XVI. N.S. p. 309. Tafel 23.

2) Vergl. Pfeffer, Osmotische Untersuchungen S. 198,

Als Material für meine Untersuchung wählte ich die Randtentakeln auf dem Blatte von *Drosera rotundifolia.* Von anderen insektenfressenden Pflanzen habe ich *D. intermedia. D. spathulata* und *Pinguicula vulgaris* so weit verglichen, als erforderlich war, um mich von der Identität der fraglichen Erscheinungen bei ihnen zu überzeugen. Ich fange daher mit einer Beschreibung der Zellen in den Tentakeln der erstgenannten Pflanze und zwar im ungereizten Zustande an.

Bau der Zellen im ungereizten Zustande. Die Randtentakeln der Blätter von *Drosera rotundifolia* bestehen bekanntlich aus einem langen Stiel und der von diesem getragenen, mehr oder weniger ovalen Drüse. Ein dünnes Gefässbündel, welches aus den Randnerven des Blattes entspringt, durchzieht den Stiel und ist in der Drüse keulenförmig verdickt. Die Zellen, welche dieses Bündel umgeben, sind langgestreckt und an beiden Enden meist quer abgestutzt; sie bilden am Grunde des Stiels eine verhältnissmässig dicke, nach oben aber sehr dünn werdende Bekleidung. Die Zellen der äusseren Schicht oder Epidermis eignen sich für die mikroskopische Untersuchung am besten, da man dabei die ganzen Tentakeln unter das Deckglas zu bringen pflegt. Die Grösse der Zellen, und zumal ihre Länge, nimmt von unten nach oben sehr bedeutend ab; die Oberhautzellen der Drüse selbst sind nahezu isodiametrisch.

Der Inhalt einer jeden Zelle besteht aus einer dünnen Lage wandständigen Plasmas und einem meist dunkelroth gefärbten Zellsaft. In jenem Plasma sieht man den Kern und spärliche kleine gelblichgrüne Chlorophyllkörner (Fig. 1). Auch sieht man darin einige, nur wenig gegen die Axe der Zelle geneigte Strombahnen (Fig. 1*aa*‘). In diesen ist aber eine wirkliche Strömung nur äusserst schwierig zu beobachten; vielleicht im völlig ungereizten Zustande oft gar nicht vorhanden. Doch ist es nicht leicht, sich darüber Sicherheit zu verschaffen, dass eine unter dem Mikroskop gerade beobachtete Tentakel wirklich völlig ungereizt ist.

Der Zellsaft ist an stark besonnten Pflanzen dunkelroth. Diese Farbe erleichtert die Beobachtung der Aggregation sehr wesentlich, und ich habe daher meine Pflanzen, in Töpfen, an der vollen Sonne gezogen. In Blättern, welche sich im Schatten entwickelt haben, ist die Farbe viel blasser, ja man kann ganz grüne Blätter, ohne jede Spur von Farbstoff, bekommen, wenn man die Töpfe im Zimmer, in hinreichender Entfernung vom Fenster hält. Ist einmal ein Blatt unter diesen Umständen erwachsen und grün geblieben, so konnte ich es durch nachträgliche Besonnung nicht wieder roth

machen; dagegen verloren rothe Blätter ihre Farbe nicht, als sie im Zimmer bei schlechtem Lichte aufbewahrt wurden [1]).

Die Zellen besitzen einen ziemlich bedeutenden Turgor. Ihr Inhalt wird von einer 2procentigen Salpeterlösung nicht, oder doch höchstens in einzelnen Zellen plasmolysirt [2]), wohl aber von 3procentigen und stärkeren Lösungen. Tentakeln, welche sich, nach Eiweissfütterung, gegen die Beute hin gebogen haben, behielten ihre Krümmung in 1- und 2procentigem Kalisalpeter, streckten sich aber in 3procentigen und stärkeren Lösungen gerade, zum Beweis, dass in ersteren Lösungen ihr Turgor nicht, in letzteren aber wohl aufgehoben war.

Dass die Vacuole eine eigene Wand besitzt, davon kann man sich durch Anwendung einer 10procentigen Salpeterlösung leicht überzeugen. Die Erscheinungen, welche man dabei beobachtet, sind sehr verschieden, die wichtigsten Fälle sind in den Figuren 2—4 abgebildet. Fig. 2 ist eine Zelle aus einer Tentakel mit farblosem Zellsaft; die Salpeterlösung hat das äussere Protoplasma in seiner ursprünglichen Lage fixirt; Kern (*k*) und Chlorophyllkörner liegen also auch jetzt noch an der Wand. Die Vacuole hat sich mit ihrer Wand vom todten Plasma isolirt und sich unter sehr bedeutender Verkleinerung ihres Volumens in vier Theile gespalten, welche jetzt als farblose Kugeln mit gespannter Wand frei im Lumen der Zelle liegen. Die Salpeterlösung war mit Eosin gefärbt; die todten Theile nahmen diesen Farbstoff auf, die lebendigen Wände der Vacuolen aber nicht. Daher waren die Kugeln in der rothen Umgebung als farblose Körper leicht zu erkennen. Erst als nach einiger Zeit die Wandungen der Vacuolen starben, drang das Eosin in letztere ein.

Wiederholt man diese Beobachtung an Zellen mit rothem Zellsaft, unter Benutzung einer ungefärbten Salpeterlösung, so heben sich die Vacuolen als dunkelrothe Kugeln von der farblosen Umgebung ab.

Nicht selten ist die Fixirung des Protoplasma keine so plötzliche wie in dem beschriebenen Falle. Es contrahirt sich dann mehr oder weniger, bevor es stirbt, und bevor die Wand der Vacuole sich von

---

1) Genau so verhält sich auch in anderen Pflanzen der rothe Farbstoff gegen das Licht, z. B. in *Azolla caroliniana*. Ob auch die Wärme dabei eine Rolle spielt, bleibt zu ermitteln.

2) Es gilt dieses für das von mir benutzte Material. Die Feuchtigkeit des Bodens und andere Umstände haben auf die plasmolytische Grenzconcentration einen bedeutenden Einfluss. *Opera II*, S. 259.

ihm isolirt, indem sie sich weiter contrahirt. Gewöhnlich bleibt dabei der todte Theil des Protoplasten rings um die Vacuole ausgebreitet; bisweilen sieht man ihn aber seitlich aufgerissen und zu einer neben der Vacuole liegenden, formlosen Masse zusammengezogen, wie solches in Fig. 4 für eine Zelle mit rothem Zellsaft dargestellt ist. Die Vacuole hat sich hier nicht, wie in Fig. 2, in mehrere Theile gespalten.

Erwärmte ich unter dem Mikroskop Zellen, deren Vacuolen sich innerhalb der gestorbenen Plasmatheile isolirt hatten, bis über die Temperaturgrenze, so sah ich mehrfach die Saftblasen platzen, zusammenschrumpfen, und ihren Inhalt durch den Riss ausstossen. Man überzeugt sich bei solchen Versuchen leicht, dass der Inhalt flüssig ist. In Zellen mit rothem Zellsaft sieht man den Farbstoff sich dabei allmählich mit der farblosen Salzlösung mischen.

Sind die isolirten Zellsaftblasen nach kürzerem oder längerem Aufenthalt in der Salpeterlösung gestorben, ohne zu platzen, so sind sie erstarrt, und färben sich jetzt mit Eosin mehr oder weniger.

Nahezu ebenso häufig, wie die beschriebenen Wirkungen, bedingt die eindringende Salpeterlösung in den Zellen unserer Tentakeln auch normale Plasmolyse. Dabei theilt sich die Vacuole gewöhnlich gleichfalls in mehrere Theile, und zieht sich dann das Plasma zwischen diesen anfangs zu dicken, später zu dünnen und nicht selten zerreissenden Fäden aus. Zugesetztes Eosin färbt nun nur die zwischen Plasma und Zellhaut eingedrungene Lösung, das ganze Protoplasma bleibt ungefärbt. Ueberlässt man nun aber das Präparat während einer bis mehrerer Stunden sich selbst, so pflegt der Protoplast zunächst nur in seinen äusseren Theilen zu sterben, die Wände der Vacuolen bleiben aber noch längere Zeit lebendig. In Fig. 3 ist dieser Zustand für eine Zelle mit farblosem Zellsaft abgebildet. Protoplasma und Kern sind roth geworden, die Vacuolen aber farblos geblieben. Erst als auch die Saftblasen starben, drang das Eosin in die Vacuolen ein.

In Zellen mit rothem Zellsaft sieht man den Farbstoff in den Vacuolen angehäuft, ohne diese verlassen zu können, auch wenn das äussere Plasma bereits längere Zeit gestorben ist. Solche Bilder sind leicht zu bekommen und viel schöner wie der in Fig. 3 abgebildete Fall, dafür ist aber die Gewissheit, dass das äussere Protoplasma gestorben ist, im letzteren, wegen der Anwendung des Eosins, grösser.

Eine 10procentige Lösung von essigsaurem Natron leistet bei diesen Versuchen dieselben Dienste wie die gleich starke Salpeter-

lösung, und hat den Vortheil, dass die lebendigen Präparate wegen der Hygroskopicität dieses Salzes sich viel länger und bequemer aufbewahren lassen, ohne dass man einen Schaden durch Zunahme der Concentration zu fürchten hat. Die Fig. 4 stellt eine mit jener Lösung behandelte Zelle vor.

Zum Schlusse ist noch hervorzuheben, dass die beschriebenen Erscheinungen in allen Einzelheiten genau dieselben sind, welche sich dem Beobachter beim Aufsuchen der Wand der Vacuole auch in anderen Pflanzen darbieten. Eine Vergleichung unserer Figuren 2—4 mit den Tafeln I—IV in *Opera* II, S. 446 wird dieses sofort zeigen.

Die verschiedenen Perioden der Aggregation. Die Beobachtungen von Darwin und anderen Forschern beziehen sich ausschliesslich auf jene Zustände, in denen sich der gefärbte Inhalt, nach der Reizung, bereits mehr oder weniger contrahirt hat. Die Aggregationsbewegungen beginnen aber keineswegs mit jener Contraction. Im Gegentheil, diese fängt erst an, wenn Veränderungen in den Protoplasten bereits äusserst lebhaft geworden sind. Aus diesem Grunde unterscheide ich in der ganzen Erscheinung zwei Perioden, deren erstere durch den Mangel an erheblicher Verkleinerung der Vacuolen gekennzeichnet ist, während die zweite gerade jene Contractionsvorgänge umfasst. Dass beide in der Natur nicht getrennt sind, sondern ganz allmählig in einander übergehen, braucht wohl nicht besonders betont zu werden. Die Unterscheidung hat aber den Vortheil, die einzelnen Factoren der Erscheinung bequemer behandeln zu lassen, indem sie die Besprechung des einen, der Contraction, bis nach der Behandlung der übrigen verschiebt.

Der besseren Uebersicht wegen möchte ich schon jetzt bemerken, dass die den beiden Perioden gemeinschaftlichen Factoren die beiden folgenden sind: 1) Eine starke Beschleunigung und Differenzirung der Circulationsströme des Protoplasma. 2) Das Auftreten einer grösseren, oft erstaunlich grossen Anzahl kleiner Vacuolen, anstatt des anfangs einzigen grossen Saftraumes, wobei jeder Theil von einem Theile der ursprünglichen Wand der Vacuole allseitig umschlossen bleibt. Diese beiden Factoren werden wir also in der ersteren Periode für sich allein studiren können, ohne wesentliche Verminderung des Gesammtvolumens des Zellsaftes; in der zweiten Periode wird dann von selbst diese Volumenverminderung in den Vordergrund treten.

Hat die Wirkung des Reizes aufgehört, so kehren die Protoplaste wieder in ihren normalen, in Fig. 1 dargestellten Zustand zurück.

Dieser Vorgang stellt die dritte Periode der Erscheinung dar. In Bezug auf diese kann ich aber den meisterhaften Darlegungen Darwin's nichts zufügen, und verweise ich den Leser somit auf dessen bereits citirtes Werk.

Als Reizmittel habe ich fast ausschliesslich die Fütterung der Blätter mit kleinen Stückchen gekochten Eiweisses benutzt. Ich versorgte damit täglich mehrere Blätter, ohne sie etwa von der Pflanze abzutrennen, und wählte dann am nächsten Tag aus ihnen dasjenige aus, welches sich gerade in dem gewünschten Zustande der Reizung befand. Die einzelnen Tentakeln untersuchte ich dann ohne weitere Vorbereitung in Wasser unter dem Mikoskop; die sehr resistente Cuticula schützt sie dabei gegen die Einwirkung des Wassers in hinreichendem Grade. Schwache Lösungen von kohlensaurem Ammoniak stellen nach Darwin gleichfalls ein sehr gutes Reizmittel dar; will man damit aber, wie üblich, an abgeschnittenen Tentakeln arbeiten, so ist man meist gezwungen, eine zu kräftige Wirkung zu veranlassen, um die gewünschten Stadien in der Zeit weniger Stunden eintreten zu lassen. Auch bedingt das Ammoniaksalz den schon erwähnten sich zusammenballenden Eiweissniederschlag, und gibt dadurch leicht zu Verwechslungen Veranlassung. Doch habe ich nicht versäumt, auch mit diesem Reizmittel Versuche anzustellen.

Aeusserst schöne und starke Aggregation (zweite Periode) bekam ich auch in folgender Weise: Zehn oder mehr Tentakeln wurden abgeschnitten, und im hängenden Wassertropfen in einer feuchten Kammer 24 Stunden aufbewahrt. Der Zellsaft aus den durchschnittenen Zellen wirkte hier wahrscheinlich als Reiz auf die Drüsen.

Wo in den folgenden Beschreibungen über die Art des Reizes nichts weiter bemerkt wird, ist stets die durch Fütterung mit Eiweiss gemeint. Ebenso beziehen sich die Beobachtungen, ohne Angabe des Gegentheils, stets auf dunkelrothe Zellen in den Randtentakeln unserer Pflanze.

Erste Periode, erstes Beispiel (Fig. 5). Die in Fig. 5 dargestellte Zelle befand sich in der Nähe einer jener kleinen seitlichen Drüsen, welche man hier und dort an den Tentakeln beobachtet. Die zwischen dieser Zelle und dem Gipfel der Tentakel liegenden Zellen zeigten alle starke Aggregation, die weiter entfernten Zellen aber nicht; es war also zu erwarten, dass hier die Aggregation in ihrem Anfange zur Beobachtung gelangen würde. Als ich die Wahrnehmung begann, bot die Zelle das Bild Fig. 5 *A* und durchlief dann

in 26 Minuten eine Reihe von Zuständen, von denen ich die wichtigsten in den Figuren 5 *B*—*G* dargestellt habe.

Anfangs (Fig. 5 *A*) schien es mir, als ob die Zelle, wie im normalen Zustande, nur Eine Vacuole hätte. Schief über diese lief, zwischen *a* und *b*, eine deutliche Strombahn, in der sich das Protoplasma ziemlich rasch von *a* nach *b* fortschob. Bald zeigte sich, dass diese Linie zugleich die Grenze zwischen zwei Vacuolen darstellte, dass die Trennungsfläche aber gegen die Axe des Mikroskopes so schief stand, dass sie nur schwer zu sehen war. Diese Grenzfläche verschob sich allmählich nach links und unten, in der Figur, und stellte sich immer mehr vertical in Bezug auf den Tisch des Mikroskops. Nach 5 Minuten (Fig. 5 *B*) hatte sie einen völlig verticalen Stand, das Licht kam nun zwischen den beiden Vacuolen hindurch und die Grenze stellte sich jetzt als deutliche farblose Linie dar (Fig. 5 *Ba*, *b*). Die Bewegung dieser letzteren dauerte fort, nach weiteren 2 Minuten stand sie merklich steiler in Bezug auf die Axe der Zelle (Fig. 5 *C*, *Da*, *b*), verlor dann allmählich an Schärfe und verschwand (Fig. 5 *E*), wohl indem ihre Berührungslinie mit dem wandständigen Protoplasma auf die seitliche Wand der Zelle überging.

Inzwischen dauerte im wandständigen Protoplasma die Circulationsgewegung überall lebhaft fort. In einzelnen Figuren ist die Richtung der Ströme, wo diese am stärksten waren, durch Pfeile angegeben. Die Strombahnen zeigten dabei gewöhnlich eine seitliche Verschiebung, welche im Allgemeinen an der meinem Auge zugekehrten Wand von rechts oben nach links unten gerichtet war. Eine innige Beziehung zwischen diesen Bewegungen des circulirenden Protoplasma und der Verschiebung der Grenzen zwischen den Vacuolen sprang deutlich in die Augen. Es wurde solches schon für die Linie *a*, *b*, welche zugleich eine Strombahn und eine Grenze zwischen zwei Vacuolen darstellte, beschrieben. Ebenso klar war es an den kleineren Vacuolen zu sehen, welche später auftauchten und mit den Strömen mitgeführt wurden. Man sieht sie in Fig. 5 *D*, *E*, *F* und *G* in wechselnder Lage neben den grösseren Vacuolen abgebildet.

In Fig. 5 *D* sieht man zwischen *e* und *f* und in Fig. 5 *G* zwischen *g* und *h* dieselbe Erscheinung wie in Fig. 5 *A* bei *a* und *b* sich wiederholen. Es tauchte eine Grenze zwischen zwei Vacuolen allmählich auf, verschob sich nach links unten, wurde schärfer, bald als farblose Linie sichbar, um endlich an der linken unteren Wand wieder zu verschwinden.

Die benachbarten Zellen desselben Präparates zeigten während dieser Zeit ähnliche Veränderungen.

Zweites Beispiel (Fig. 6). Als Reizmittel wurde 0,1procentiges kohlensaures Ammoniak benutzt. Während der Beobachtung drang dieses in so geringer Menge ein, dass der mehrfach erwähnte Niederschlag eines eiweissartigen Körpers sich nicht bildete; dieser zeigte sich erst etwa eine halbe Stunde später. Die Cuticula der Tentakeln beeinträchtigt das Eindringen von Reagentien in die Zellen sehr wesentlich. Ich wählte wiederum eine Zelle, in welcher die Folgen der Reizung erst vor kurzer Zeit angefangen hatten sichtbar zu werden.

Anfangs schien diese Zelle von einer grossen Vacuole nahezu ganz erfüllt (Fig. 6 *A*), nur an einem der beiden Enden zeigten sich zwei kleine Vacuolen. Diese verschwanden bald; darauf wurde an ihrer Stelle und gleichzeitig am anderen Ende eine Reihe kleinerer sichtbar (Fig. 6 *B*). Auch tauchte eine Grenzlinie (Fig. 6 *Ba, b*) auf, welche sich nach rechts verschob und immer deutlicher wurde (Fig. 6 *Ca, b*). Diese Vorgänge wiederholten sich in den nächsten Minuten (Fig. 6 *DE*). Gleichzeitig wurden die Circulationsströme immer deutlicher und führten sie immer grössere Mengen von kleinen Vacuolen um die grösseren herum. Die in Fig. 6 *E* bei *c* abgebildete kleine Vacuole konnte ich von unten bis oben an der ganzen seitlichen Wand verfolgen; sie wurde mit bedeutender Geschwindigkeit fortgeschoben und stülpte dabei die benachbarte grössere Vacuole in entsprechender Weise vorübergehend ein. Kaum war sie oben angelangt, so wiederholte eine andere Vacuole, von unten anfangend, dasselbe Spiel, welches bald darauf (Fig. 6 *Fd*) auch von einer Gruppe kleinerer Vacuolen nachgeahmt wurde; auch diese konnte ich von oben nach unten verfolgen. Die Veränderungen waren jetzt so rasch, dass ich sie gar nicht alle übersehen konnte, und kaum die Zeit hatte, die wichtigsten auf das Papier zu skizziren. Am lebhaftesten bewegt zeigte sich das Bild 17 Minuten nach dem Anfang der Beobachtung (Fig. 6 *H*); die Zelle schien mir von zahlreichen grösseren und kleineren Vacuolen dicht erfüllt, von denen die kleineren sehr rasch herumgeführt wurden, während sich die Grenzlinien der grösseren etwas langsamer verschoben. Die Pfeile geben die Richtung jener Bewegungen an. Es dauerte aber nicht lange, bis mehrere Grenzlinien von der dem Auge zugekehrten Wand auf die Seitenwände hinübergeschoben waren, und die Zahl der Vacuolen somit eine kleinere zu sein schien (Fig. 6, *J*).

Ob während der Beobachtung die Zahl der Vacuolen zugenommen hat, konnte ich bei ihrer raschen Verschiebung nicht sicher entscheiden. Es ist ja immer die Möglichkeit vorhanden, dass die anscheinend neu auftauchenden Vacuolen vorher hinter den vorhandenen lagen und von diesen völlig verdeckt waren. Einige Male glaubte ich Falten zu sehen, welche eine Spaltung von Vacuolen herbeizuführen strebten; es blieb aber unsicher, ob es nicht Grenzen zwischen bereits getrennten Vacuolen waren, welche in der im vorigen Beispiel beschriebenen Weise allmählich auftauchten.

Uebersicht über die erste Periode. Aehnliche Zustände und Bewegungen, wie in unseren beiden Beispielen, habe ich zu wiederholten Malen beobachtet und mehr oder weniger lange Zeit verfolgt. Es erscheint mir unnöthig, weitere Fälte zu beschreiben. Ihr gemeinschaftliches Merkmal war erstens eine äusserst starke, d. h. rasche und in mannigfachen Bahnen strömende Circulation des wandständigen Protoplasma. Und da im ungereizten Zustande diese Bewegung kaum oder nicht sicher zu beobachten ist, so ist es klar, dass sie durch den Reiz in hohem Maasse beeinflusst wird.

Das zweite Merkmal ist die grössere Zahl und auffallende Beweglichkeit der Vacuolen. Dass die ursprüngliche einfache Vacuole durch Ein- und Abschnürung ihrer Wand sich in diese kleineren getheilt hat, und dass nicht etwa eine Anzahl neben ihr im Protoplasma aufgetaucht sind, lehrt sofort der Umstand, dass der rothe Farbstoff sich über alle vertheilt hat. Den Vorgang der Einschnürung und Spaltung selbst habe ich hier nicht beobachten können. Die Bewegung der Vacuolen scheint mir eine völlig passive; die kleineren werden augenscheinlich von den Circulationsströmen mitgeführt, und die grösseren folgen in ihren Verschiebungen, wo es deutlich sichtbar ist, gleichfalls den Bewegungen jener Ströme.

Die beschriebenen Bewegungen beobachtete ich sowohl an sehr rothen als auch an blasseren Tentakeln; am schönsten in den mittleren Zellen, am seltensten und am wenigsten ausgeprägt in jenen der unteren Hälfte. In den kleineren und engeren Zellen nahe am Gipfel pflegt die Vacuole nach Reizung in sehr zahlreiche kleinere getheilt zu sein; hier sah ich häufig, wie einzelne Vacuolen anscheinend mit Gewalt zwischen andere hineingeschoben wurden, und wie ihre Form dabei, oft in hohem Grade, verzerrt wurde.

In den ein wenig unterhalb der Mitte der Tentakeln befindlichen Zellen war die Bewegung oft bedeutend schwächer; es waren neben der grossen Vacuole nur einzelne kleinere, welche von den wandständigen Circulationsströmen herumgeführt wurden. Auch war die Bewegung hier insofern eine weniger intensive, als sie durch das Präpariren sistirt wurde, und erst nach 20—30 Minuten wieder anfing, während die kräftigere Bewegung in den höheren Zellen derselben Tentakeln vom Präpariren nicht merklich gestört wurde. Im Anfange der ersten Periode nimmt somit, wie zu erwarten war, die ganze Erscheinung allmählich an Intensität zu.

Zweite Periode. Erstes Beispiel (Fig. 7). In einer mittelst ½-procentiger Lösung von kohlensaurem Ammoniak gereizten Tentakel beobachtete ich Zellen, deren Vacuole etwa in der Mitte der Zelle sich eingeschnürt und getheilt hatte. Darauf hatten sich beide Hälften derart verkleinert, dass ein mehr oder weniger bedeutender, farbloser Raum zwischen ihnen vorhanden war. In der abgebildeten Zelle war an dieser Stelle der Zellkern sichtbar; auch waren die Ströme des Protoplasma daselbst leicht zu beobachten.

Dieser Fall ist deshalb wichtig, weil er die Volumverminderung der von ihrer Wand umhüllten Vacuolen ohne vorherige Theilung in eine grosse Menge kleiner Blasen wahrnehmen lässt. Denn dadurch wird die Beziehung der sich contrahirenden Blasen zu der Wand der ursprünglich vorhandenen einzigen Vacuole eine in die Augen springende. Doch ist es verhältnissmässig selten, dass die Contraction der Blasen schon nach so geringer Zertheilung eintritt.

Zweites Beispiel (Fig. 8 *A—E*). In Fig. 8 *A* sind zwei Zellen aus einer Tentakel eines am vorigen Tage mit Eiweiss gefütterten Blattes abgebildet. Die Vacuole war in beiden in zahlreiche grössere und kleinere Theile zerspalten, deren Gesammtvolumen offenbar viel kleiner war, als dasjenige, welches die ursprüngliche Vacuole im normalen Zustande ohne Zweifel eingenommen hatte (vergl. z. B. Fig. 1). Das Protoplasma war überall in lebhafter strömender Bewegung, die einzelnen Vacuolen veränderten fortwährend ihre Form und ihre gegenseitige Lage. Nach 4 Minuten boten die Zellen das in Fig. 8 *B* dargestellte Bild. Die Veränderungen waren so rasch, dass ich keine Zeit fand, ihnen auch nur skizzenweise mit dem Bleistift zu folgen; bevor eine Skizze fertig ist, hat sich das Bild in der betreffenden Zelle schon geändert. Nach-

her habe ich nur noch die Zelle *I* abgebildet und in den Figuren 8 *C—E* dargestellt. In Fig. 8 C sieht man die im Gipfel befindlichen rothen Blasen zu zahlreichen feinen Röhrchen mit rothem Inhalt ausgezogen; auch diese Röhrchen waren in fortwährender Bewegung. Solche Röhren beobachtet man in gereizten Tentakeln gar häufig; nicht selten sind ganze Zellen damit dicht erfüllt. In unserem Beispiele wechselten sie ihre Form jeden Augenblick; nach wenigen Minuten waren sie alle wieder zu kleineren und grösseren, ovalen und kugeligen Blasen geworden (*D*, *E*).

In der unteren Hälfte derselben Zelle hatte ich Gelegenheit, das auch von Darwin beschriebene Zusammenfliessen der rothen Massen zu beobachten. Die drei Vacuolen *a*, *b* und *c* in Fig. 8 *C* waren scharf von einander getrennt und näherten sich gegenseitig allmählich. Plötzlich sah ich *a* und *b* sich vereinigen, es war deutlich, dass ihre Wände zunächst zusammenflossen, und dass sie sich derart öffneten, dass der flüssige Inhalt beider Blasen sich mischen konnte. Die Vereinigungsstelle wurde sofort unkenntlich, indem die Wand sich daselbst völlig abglättete (*d*). Nur wenige Augenblicke später wiederholte sich dasselbe Spiel zwischen der Blase *d* (dem Vereinigungsproducte von *a* und *b*) und der dritten Vacuole *c*, und zwar genau in derselben Weise. So entstand die grosse Blase *e* in Fig. 8 *E*.

Bevor ich diese letzteren Beobachtungen machte, hatte ich dem Präparate einen Tropfen einer 0,1 Procent haltenden Lösung von kohlensaurem Ammoniak zugesetzt.

In weitaus den meisten Fällen sieht man die Vacuolen einfach an einander vorbeischieben. Nicht selten hat es dann den Anschein, als ob zwei Blasen sich vereinigen, oder eine sich spaltet, aber die Erscheinung ist keine scharf und deutlich definirte. Vielleicht haben gar häufig unter meinen Augen Vereinigungen und Spaltungen von solchen Blasen stattgefunden, ohne dass ich sie von dem einfachen Vorbeischieben mit Sicherheit unterscheiden konnte; oft war ich in dieser Beziehung in Zweifel. In dem abgebildeten Fall war aber das Zusammenfliessen ein stossweises, und gar leicht von jeder anderen möglichen Erscheinung zu unterscheiden.

Die Contraction der Blasen, obgleich zu Anfang der Beobachtung deutlich angefangen, hatte während der Dauer des Versuchs (20 Minuten) nicht merklich zugenommen. In Uebereinstimmung mit zahlreichen anderen Beobachtungen spricht dieses dafür, dass sie langsam fortschreitet.

Drittes Beispiel (Fig. 9). In den beiden vorigen Beispielen war die Contraction der Blasen noch eine verhältnissmässig geringe. Als drittes Beispiel wähle ich daher eine Zelle mit sehr starker Aggregation. Das Blatt war am vorigen Tage mit Eiweiss gefüttert, die Tentakel hatte sich kräftig gebogen und ihre Drüse an das Eiweissstückchen gestemmt. Die Zelle lag ein wenig oberhalb der Mitte des Stiels, also in dem nicht gekrümmten Theile.

Als die Zelle zur Beobachtung gelangte, zeigte sie das in Fig. 9 *A* gezeichnete Bild. Das wandständige Protoplasma mit seinen zerstreuten blassen Chlorophyllkörnern hatte seine normale Lage nicht verändert. Aber es war überall in zahlreiche, äusserst feine Strombahnen wie vertheilt; von diesen war es nicht möglich, mehr als einzelne zu zeichnen, da das Bild zu rasch wechselte. Der rothe Zellsaft lag in der unteren Hälfte der Zelle in vier Blasen verschiedener Grösse; diese lagen einem ziemlich breiten Protoplasmastrome auf und wurden von diesem in der Richtung des Pfeiles langsam fortgeschoben. In der oberen Hälfte lagen zahlreiche kleine Blasen mit rothem Inhalt; wegen ihrer fortwährenden Bewegung konnte ich nur einzelne zeichnen. Doch war es sehr deutlich, dass wenigstens die meisten dieser kleinen Blasen den Circulationsströmchen des wandständigen Protoplasma angeheftet waren und von diesen mitgeführt wurden; überall, wo ich mein Augenmerk in dieser Zelle auf eine sich bewegende rothe Kugel lenkte, konnte ich auch das Strömchen entdecken, welches sie mit sich schleppte. Dabei bewegten sich die grösseren rothen Kügelchen langsamer als die farblosen Körnchen desselben Stromes.

Betrachten wir zunächst die Vorgänge in der unteren, der Basis des Stiels zugekehrten Hälfte unserer Zelle. Ich habe schon bemerkt, dass die vier grösseren, dort befindlichen Blasen von einem deutlichen Protoplasmastrome einander genähert wurden. Bald berührten sie sich nahezu (Fig. 9 *B*), darauf wurden sie gegen einander gedrückt, und nun sah ich sie paarweise zusammenschmelzen und sich so in zwei grössere Blasen mit rothem flüssigen Inhalt umwandeln (Fig. 9 *C*). Zwischen diesen war der Protoplasmastrang noch deutlich sichtbar; sie erlitten jetzt in längerer Zeit keine nennenswerthen Veränderungen mehr.

In der oberen Hälfte der Zelle wurden die kleinen Vacuolen in dieser Zeit fortwährend, wenn auch bei weitem nicht gleichmässig, von ihren Strömchen fortgeführt. Dabei herrschte die

Richtung von oben nach unten vor, doch fehlten keine Ströme, welche die rothen Kügelchen in der entgegengesetzten Richtung mitschleppten (Fig. 9 *C*, *D*). Die Bewegungen waren so rasch, dass sich das Bild auch während der flüchtigsten Skizze schon merklich veränderte. Aber stets war es deutlich, dass die rothen Kügelchen keine selbständigen Bewegungen machten, sondern immer nur von Circulationsströmchen, an denen sie klebten, mitgeführt wurden.

In Fig. 9 *C* sieht man ganz oben in der Zelle eine mit *a* bezeichnete rothe Blase. Hinter ihr liegen auf demselben Strome noch mehrere kleinere. Eine dieser verlängerte sich zu einem feinen Röhrchen mit rothem Inhalt, welches nun in der merkwürdigsten Weise gekrümmt und endlich sogar gerade gestreckt und zurückgebogen wurde. Diese Bewegungen waren so rasch, dass ich sie kaum mit einzelnen Strichen aufs Papier andeuten konnte, wollte ich die Beobachtung lückenlos fortsetzen. Einige Zustände sind in Fig. 9 *E* 1—6 abgebildet, wo *a* stets dieselbe kleine vor dem Röhrchen liegende rothe Kugel bedeutet. In Fig. 9 *D* findet man hinter dieser Vacuole *a*, auf demselben Strömchen, das Röhrchen zurück. Auch dieses Röhrchen machte offenbar nur passive Bewegungen.

Viertes Beispiel (Fig. 10). Hierzu wählte ich eine Zelle aus einer Tentakel eines Blattes, welches am vorigen Tage mit Eiweiss gefüttert war. Die Zelle zeigte sich in schönster Aggregation, und wurde jetzt noch weiter gereizt, indem sie in einen Tropfen einer 1Procent haltenden Lösung von kohlensaurem Ammoniak zur Beobachtung gelangte. Zu bemerken ist, dass die Cuticula diese Lösung kaum durchlässt, und dass also, in der kurzen Beobachtungszeit (¼ Stunde) jedenfalls nicht mehr als Spuren des Salzes in die Zelle eindringen konnten.

Im Gegensatz zu dem dritten Beispiele konnte ich in dieser Zelle die Strömchen des Protoplasma trotz aller Mühe nicht sehen. Dennoch machte die Bewegung der rothen Blasen es unzweifelhaft, dass sie von solchen mitgeschleppt wurden, namentlich in Fig. 10 *F*—*I*, wo sie alle in einer Richtung hinter einander sich bewegten und einander allmählich näher rückten. Sie mussten also auf einem und demselben Strome liegen. Es war mir diese Beobachtung gerade deshalb sehr wichtig. Denn bekanntlich haben weder Darwin noch andere Forscher die Ursache der Bewegungen der rothen Massen erkannt, offenbar weil sie die Strömchen, denen sie angeheftet waren, nicht sehen konnten. Im vor-

liegenden Falle stimmt meine Beobachtung also völlig mit ihren Wahrnehmungen überein, und kann also, durch Vergleichung mit den vorliegenden Beispielen, zur Erklärung ihrer Befunde leiten.

Auch in dieser Zelle sah ich eine röhrenförmige Blase (Fig. 10 *A*), welche sich in der Mitte theilte, und erst zum Theil, später ganz sich in kleine Kügelchen auflöste. Doch komme ich auf diese Vorgänge bald zurück.

Die in Fig. 10 *A*—*I* abgebildeten Stadien wurden gerade in einer Viertelstunde durchlaufen. Erst viel später drang das Ammoniaksalz in diese Zelle in solcher Menge ein, dass es jenen sich zusammenballenden Niederschlag von Eiweisskörpern im Zellsaft verursachte.

Uebersicht über die zweite Periode. In den zahlreichen Tentakeln, in denen ich die Aggregation in der zweiten Periode beobachtete, waren Zustände wie der im dritten Beispiel (Fig. 9) beschriebene die gewöhnlichsten, wenigstens die am meisten in die Augen springenden. Doch auch die übrigen Fälle waren so häufig, dass die behandelten Beispiele als Typen für den normalen Vorgang betrachtet werden dürfen. Namentlich auf das Vorhandensein der Circulationsströme richtete ich stets mein Augenmerk, sowie auf die Thatsache, dass die Ortsbewegungen der rothen Blasen immer, wo es sich entscheiden liess, durch diese Ströme bewirkt wurden. Auch die Veränderungen in der Form, das Ausziehen der Blasen zu Röhren, waren passive; doch komme ich hierauf weiter unten noch zurück.

Vorsichtiges Erwärmen unter dem Mikroskope beschleunigte die Bewegungen, wie ich oft beobachtete, und zwar sowohl die der Strömchen als die der rothen Kügelchen. Es brachte dieses in manchen Fällen eine gewünschte Bestätigung für die ursächliche Beziehung zwischen beiden. Auch kohlensaures Ammoniak wirkte oft beschleunigend auf beide Bewegungen.

Ausser den bereits mehrfach genannten Reizmitteln konnte ich auch durch wasserentziehende Mittel, schon bevor diese Plasmolyse hervorriefen, eine starke Aggregation bewirken. Sowohl kräftige Bewegungen, als wiederholte Theilungen und starke Volumenverminderung der Vacuole werden durch 10procentige Lösungen von Salpeter, essigsaurem Natron und durch andere plasmolytische Reagentien erzielt. Ich bemerke ausdrücklich, dass in den betreffenden Fällen Aggregation ohne gleichzeitige Contraction der Hautschicht des Protoplasma, und also nicht etwa Plasmolyse eintrat; diese erfolgte erst später, als die Reagentien

in grösseren Mengen eindrangen. Die Cuticula ist für die Lösungen anscheinend impermeabel; nur die kleinen Drüsen stellen am Stiele permeable Stellen dar. In Zellen, welche von solchen Drüsen entfernt liegen, dringen Reagentien nur langsam vor. Dass plasmolytische Reagentien Aggregation bewirken können, wurde bereits von Darwin berichtet, von anderen Forschern bis jetzt aber nicht bestätigt [1]).

Von der ersteren Periode unterscheidet sich die zweite, nach obigen Beschreibungen, also nur durch die erhebliche Verminderung des Volumens der Vacuolen. Die beschleunigte Circulationsbewegung und die Vertheilung der Vacuole in mehr oder weniger zahlreiche kleinere sind beiden gemeinsam. Wir wollen jetzt diese drei Factoren in biologischer Beziehung etwas näher betrachten.

Meiner früher entwickelten Vorstellung von der Bedeutung der Circulationsbewegung gemäss [2]) scheint es mir speciell für den vorliegenden Fall einleuchtend, dass die Beschleunigung dieser Bewegung den Transport der von den Drüsen aufgenommenen Nährstoffe zu fördern hat. Denn so lange die Drüsen unthätig sind, sind die Ströme des Protoplasma äusserst träge; und dieselben Reize, welche die Krümmung der Tentakeln und die Secretion des Fermentes auslösen, erhöhen auch die Thätigkeit des circulirenden Plasma.

Die Bedeutung der Zertheilung und Volumenverminderung der Vacuolen lässt sich nicht mit demselben Grade von Sicherheit angeben. Doch ist zu bemerken, dass die Erscheinung nicht nur in den Zellen der Stiele, sondern auch in denen der Drüse selbst auftritt. Diese Zellen scheiden aber eine farblose, klebrige Flüssigkeit ab, welche nach der Reizung bekanntlich eine Säure und ein Ferment enthält. Nimmt man an, dass diese Säure, und vielleicht auch das Ferment, vor der Reizung im Zellsaft enthalten waren, so muss in Folge des Reizes eine Trennung der einzelnen Bestandtheile dieses Saftes eintreten, indem jedenfalls der Farbstoff nicht mit ausgeschieden wird. Und da nun der Farbstoff in den sich verkleinernden Vacuolen zurückbleibt, und bei dieser Volumenverminderung also gleichfalls eine Trennung der Bestandtheile des Zellsaftes stattfindet, so liegt es auf der Hand, eine Beziehung zwischen diesen beiden Vorgängen zu vermuthen. Vielleicht bereitet der letztgenannte den ersteren vor. Es würde

1) cf. Fr. Darwin, l. c. S. 309.
2) Bot. Ztg. 1885. Nr. 1.

sich dann erklären, weshalb die Aggregation in den Stielzellen stets in der Nähe der Drüse am stärksten ist, und mit zunehmender Entfernung von dieser allmählich abnimmt. Die Theilung der Vacuole hätte dann vielleicht nur deren Oberfläche im Verhältnisse zu ihrem Volumen zu vergrössern, und dadurch die Ausscheidung zu erleichtern. Ob das Mitführen der Vacuolen mit den Protoplasmaströmchen nur eine nothwendige Folge ihrer Berührung mit diesen ist, oder noch eine besondere Bedeutung hat, können wir einstweilen ruhig dahingestellt bleiben lassen.

Die nähere Erforschung der sich hier dem Beobachter aufdringenden Fragen verspricht offenbar äusserst wichtige Resultate, nicht nur für die Kenntniss der Aggregation selbst, sondern auch für die allgemeine Zellenphysiologie. Doch war es nicht mein Zweck, die Bedeutung der Erscheinung aufzuklären.

Die röhrenförmigen Vacuolen. Bereits mehrfach habe ich eine eigenthümliche Art der kleinen Vacuolen, um ihre Oberfläche im Verhältnisse zu ihrem Volumen zu vergrössern, erwähnt. In Fig. 8 *C* sahen wir zahlreiche, in Fig. 9 *D* und *E* und Fig. 10 *A* einzelne Röhrchen mit rothem Inhalt. Solche Vorkommnisse sind auch schon von Darwin beobachtet und von seinem Sohne abgebildet worden (l. c. Taf. XXIII Fig. 6). Gar häufig sah ich in allen oder doch fast allen Zellen im oberen, dünneren Theile der Tentakelstiele, nach Eiweissfütterung, den ganzen rothen Inhalt in zahllose derartige Röhrchen verwandelt, welche fortwährend durch und zwischen einander geschoben wurden. Die Zellen waren meistens nahezu ganz oder doch stellenweise von den Röhrchen dicht erfüllt; es gelang mir nicht, in irgend einer Zelle das Bild völlig zu entziffern, bevor es sich gänzlich verändert hatte. Deshalb gebe ich von diesem Falle keine Zeichnung.

Dass die Röhrchen von den Strömchen des Protoplasma fortgeschoben wurden, konnte ich oft deutlich sehen; es ist oben auch schon bemerkt worden. Auch ihre Entstehung verdanken sie der Wirkung dieser Strömchen, indem diese die kugeligen oder elliptischen Vacuolen ausziehen, wie ich bisweilen direct beobachten konnte.

Interessant ist der Einfluss der Wärme auf diese Röhrchen. Ich erwärmte die Präparate während der Beobachtung langsam, indem ich eine kleine Spiritusflamme auf kurze Zeit unter die Oeffnung des Mikroskoptisches brachte. Ich sah dann häufig die Röhrchen sich in kleine Kügelchen auflösen. Erst entstanden an mehreren Stellen Einschnürungen; das Röhrchen wurde rosenkranzförmig (Fig. 11 *b*). Hörte ich dann mit der Erwärmung auf,

so glichen sich diese Einschnürungen wieder aus, die Wand des Röhrchen wurde wieder glatt. Setzte ich die Erwärmung aber fort, so fand an den eingeschnürten Stellen eine Trennung der einzelnen Abschnitte statt; diese rundeten sich nun sofort zu kleinen Kügelchen ab. Diese lagen dann in einer Reihe auf dem Strömchen. Bisweilen konnte ich in dieser Weise alle Röhrchen in einer damit dicht erfüllten Zelle in Kügelchen auflösen.

Weitere Erwärmung veranlasste die Kügelchen häufig, sich wieder zu vereinigen; sie wurden dann nicht zu Röhrchen, sondern zu grösseren Kugeln, deren Zahl in jeder Zelle oft viel geringer war als die der vorher vorhandenen Röhrchen.

Obgleich ich das Spiel der Kräfte, welche Kugeln in Röhrchen verändern und diese wieder in kleine Kügelchen auflösen können, nicht weiter erforscht habe, möchte ich hier an die oft bei Circulationsströmen beobachtete Thatsache erinneren, dass die Geschwindigkeit der einzelnen benachbarten Theile des Stromes keineswegs dieselbe zu sein pflegt. Sogar der Rotationsstrom von *Nitella* bewegt sich ja nicht in seiner ganzen Breite mit derselben Schnelligkeit.

Nähere Beweise für die Existenz der Vacuolenwandung. Die Beschreibungen und Abbildungen, welche im Obigen von den verschiedenen Phasen der Aggregation gegeben wurden, werden wohl keinen Zweifel mehr darüber aufkommen lassen, dass die rothen Massen, die „aggregated masses" von Darwin, nichts anderes sind als der Zellsaft. Allerdings hat dieser durch den Verlust eines Theiles seiner Substanz Veränderungen erlitten. Sind letztere uns auch grösstentheils unbekannt, so ist doch wenigstens so viel klar, dass die Concentration des Farbstoffs, und also vielleicht auch die anderer Inhaltsbestandtheile, zugenommen hat. Sind aber die rothen Massen flüssig, so müssen sie offenbar von ihrer gleichfalls flüssigen Umgebung durch eine Wand getrennt sein, sonst wäre die scharfe Begrenzung nicht möglich. Und diese Wand muss, wie lebendiges Protoplasma, äusserst dehnbar und elastisch und für Farbstoffe impermeabel sein.

Die „aggregated masses" sind also Blasen, welche von einem flüssigen Inhalt erfüllt sind. Die Blasen sind Theile der ursprünglichen Wand der Vacuole, der Inhalt stellt einen Theil des Zellsaftes dar [1]).

1) Diese Massen werden nie durch und durch fest, wenn wenigstens nicht der in ihrem Inhalt gelöste Eiweisskörper durch irgend ein Reagens niedergeschlagen wird. Hierüber vergleiche man die letzten Abschnitte.

Wünscht man diesen Satz durch die directe Beobachtung zu bestätigen, so scheint mir dazu der folgende Weg am besten geeignet. Man bringe die Blase durch irgend ein Mittel zum platzen; sie schrumpft dann gewöhnlich zusammen und stösst dabei ihren rothen flüssigen Inhalt durch den Riss plötzlich aus. Die rothe Lösung mischt sich unter dem Auge des Beobachters mit der farblosen Umgebung und ist bald nicht mehr sichtbar. Die Blase aber ist zu einer ganz unscheinbaren Masse geworden, welche gar häufig zwischen den übrigen Inhaltskörpern der Zelle nicht mehr zu erkennen ist.

Das bequemste Mittel, die Blasen platzen zu lassen, ist die Erwärmung unter dem Mikroskop. Das Platzen findet dann statt, sobald die Temperaturgrenze des Lebens überschritten wird. Es ist dieses dasselbe Mittel, welches ich häufig anwandte, um bei anderen Pflanzen die aus ihren gestorbenen Protoplasten isolirten Wände der Vacuolen zum platzen zu bringen 1).

Wie in anderen Zellen, so liegt auch in den Stielzellen unserer Tentakeln die Temperaturgrenze für die Wand der Vacuole etwas höher wie für das übrige Protoplasma, wenigstens bietet erstere bei langsamer Erwärmung längeren Widerstand. Man kann sich hiervon sowohl mittelst der Plasmolyse als im Zustande der Aggregation überzeugen.

Ist in einer Zelle der Inhalt durch ein plasmolytisches Reagens etwa in der in Fig. 3 abgebildeten Weise contrahirt worden, aber noch ganz lebendig, so sind die äusseren Schichten des Plasma auch der Wärme gegenüber empfindlicher als die Vacuolenwandungen. Durch vorsichtige Erwärmung kann man die ersteren tödten, während die letzteren noch kürzere oder längere Zeit lebendig, und für Farbstoffe impermeabel bleiben. Man bringt die Zelle dann in denselben Zustand, in den sie sonst ohne Erwärmung, durch längeres Liegen, von selbst zu gelangen pflegt, und in welchem sie in Fig. 3 dargestellt ist. Bei dem Anwärmen beobachtet man nicht selten, dass die Stränge contrahirten Plasmas, welche die einzelnen Vacuolen wie in Fig. 3 verbinden, sich verkürzen und dadurch die Vacuolen einander näher rücken 2). Erwärmt man rasch, so ist dieses Verschieben der Vacuolen oft ein plötzliches.

---

1) cf. *Opera II*, S. 368.

2) In derselben Weise wie dieses für *Spirogyra* in Plasmolytische Studien über die Wand der Vacuolen, *Opera II*, Tafel IV, Fig. 7, abgebildet ist.

Um sich von dem verschiedenen Widerstande des äusseren Protoplasma und der Vacuolen gegen Wärme im Zustande der Aggregation zu überzeugen, empfiehlt sich gleichfalls die Anwendung eines plasmolytischen Reagens, am besten in geringer Concentration. Ich plasmolysirte z. B. eine Tentakel in 5procentiger Salpeterlösung; die Inhalte der stark aggregirten Zellen contrahirten sich in der in Fig. 15 abgebildeten Weise. Die Hautschicht entfernte sich an den Enden deutlich von der Zellhaut, die rothen Blasen blieben aber noch als solche frei in der farblosen Flüssigkeit, welche von der Hautschicht umschlossen war, liegen. Als ich nun vorsichtig erwärmte, sah ich die Hautschicht überall sterben und zusammenschrumpfen; die rothen Blasen veränderten sich in weitaus den meisten Zellen nicht. Es war dieses ein deutlicher Beweis für den Satz, dass die rothen Blasen durch eine eigene Wand von ihrer Umgebung abgeschieden waren. Als ich jetzt sehr langsam weiter erwärmte, sah ich die Blasen der Reihe nach platzen, und zwar in der bereits beschriebenen Weise. Eine Wiederholung dieses Versuches mit 10procentigem essigsaurem Natron als wasserentziehendem Mittel gab dieselben Resultate.

Erwärmte ich Zellen mit starker Aggregation, etwa in dem in Fig. 9 abgebildeten Zustande, ohne Anwendung eines plasmolytischen Reagens, so sah ich oft die rothen Blasen plötzlich sich verschieben, als ich die Temperaturgrenze des Lebens überschritt. Sie verschoben sich in der Richtung der Strömchen, denen sie angeheftet waren; solches war wenigstens überall der Fall, wo ich diese Strömchen sehen konnte. In Fig. 12 ist eine Zelle dargestellt, in der die beiden grösseren Vacuolen *a* und *b* mit einigen kleineren auf einem deutlichen Strömchen lagen und von diesem in der Richtung des Pfeiles fortgeführt wurden. Als ich nun erwärmte, wurden *a* und *b* plötzlich gegen einander hingeschoben, bis sie dicht an einander lagen. Offenbar contrahirte sich die Strombahn im Augenblicke des Sterbens. Einige Augenblicke später platzten die beiden Blasen in der gewöhnlichen Weise.

In der in Fig. 13 dargestellten Zelle hatte die Aggregation die Vacuole in vier noch ziemlich grosse rothe Blasen getheilt. Als ich nun langsam erwärmte, erstarrte das äussere Plasma; bald darauf starben auch die drei unteren Vacuolen, sie platzten und entliessen ihren Inhalt, ohne merklich zusammenzuschrumpfen. In der Blase *b* entstand der Riss bei *c*, hier sah ich den Inhalt austreten; als alles farblos geworden war, konnte ich den Riss an dieser

Stelle noch mehr oder weniger deutlich erkennen. Die obere Vacuole erhielt sich noch einige Minuten, dann erstarrte ihre Wand ohne merkliches Platzen oder Zusammenschrumpfen, und der Inhalt verblich. Es war leicht zu erkennen, dass der Inhalt der Blasen flüssig war; nach dem Tode erschienen sie wie leer.

In dieser Zelle waren die Wände der Vacuolen ohne erhebliche Veränderung fixirt. Solches geschieht beim Erwärmen aber nicht häufig. Dagegen kann man es fast stets durch Anwendung einer verdünnten wässerigen Jodlösung erreichen. Andere Reagentien, wie z. B. Essigsäure, lassen dagegen die rothen Blasen platzen und zusammenschrumpfen, in derselben Weise wie bei dem Erwärmen. Am einfachsten erreicht man das Erstarren durch längeres Liegenlassen der Präparate unter Deckglas.

Im Eingange dieses Aufsatzes haben wir gesehen, dass plasmolytische Reagentien bisweilen normale Plasmolyse hervorrufen, bisweilen das äussere Protoplasma ohne Contraction tödten und dann die Vacuole mit ihrer Wand isoliren (Fig. 2). Behandelt man nun Zellen, welche sich im Zustande starker Aggregation befinden, etwa wie Fig. 9 oder 12, mit solchen Reagentien, so erstarrt ebenfalls häufig die Hautschicht und das circulirende Plasma, und es bleiben dann die rothen Blasen, mitunter stundenlang, am Leben. Man überzeugt sich dann leicht von der Identität dieser Blasen mit denen, welche die genannten Reagentien in ungereizten Zellen hervorrufen, und also mit den früher von mir bei anderen Pflanzen beschriebenen Vacuolenwandungen.

Einen weiteren Beweis, dass die rothen Massen der aggregirten Zellen Blasen mit flüssigem Inhalt sind, finde ich in ihrem Verhalten gegen Druck. Uebt man in irgend einer Weise, z. B. mittelst des Deckglases, einen Druck auf die Wand der Zelle aus, so sieht man die Blase, welche in der Richtung der Mikroskopaxe comprimirt wird, sich in den übrigen Richtungen ausdehnen, oft bis auf den doppelten Umfang, bisweilen bis sie anscheinend die ganze Zelle wieder erfüllt. Zumeist platzt sie dabei, früher oder später.

Endlich habe ich mich bemüht, die Blasen aus aggregirten Zellen frei zu präpariren. Ich zerschnitt dazu Tentakeln mit starker Aggregation in mehrere Stücke, in der Hoffnung, dass die Blasen aus den durchschnittenen Zellen durch Druck oder durch irgend eine andere Ursache zum Heraustreten veranlasst werden könnten. Dieses geschah auch, als ich das Zerschneiden in einer mit dem Zellsaft nahezu isotonischen oder concentrirteren Flüssigkeit vornahm. Die Figur 14 stellt eine in 5procentigem Rohrzucker durch-

schnittene Zelle dar. Ich beobachtete darin drei Vacuolen; die obere lag bei $\alpha\beta$, doch schob sie sich unter meinen Augen langsam heraus, bis sie aus der Oeffnung hervortrat und sich jetzt zu einer rothen Kugel abrundete. In diesem Zustande erhielt sie sich etwa 1 Minute, dann verblasste sie allmählich, ohne zu platzen. Andere Zellen durchschnitt ich in Salpeterlösung von 3 Procent, es traten etwa ein halbes Dutzend Vacuolen heraus; diese sah ich platzen, als ich die Lösung durch Wasser ersetzte. Selbst durch Aussüssen der 3procentigen Lösung mit einer 2 procentigen desselben Salzes konnte ich das Platzen herbeiführen. Auch in 10procentiger Salpeterlösung sah ich einige rothe Blasen aus durchschnittenen, stark aggregirten Zellen heraustreten.

Die Flüssigkeit zwischen der Hautschicht und den Vacuolen. Die Aggregation unterscheidet sich durch kein Merkmal so vollständig von allen anderen bisher bekannten Erscheinungen im pflanzlichen Protoplasma, als durch die Isolirung der sich contrahirenden Wand der Vacuole vom übrigen Protoplasma. Gelingt es auch, bei anderen Pflanzenzellen diese Wand durch vorsichtiges Tödten der übrigen Theile eines Protoplasten zu isoliren, im normalen Leben der Zelle kommt dieses eben nur, soweit wir bis jetzt wissen, bei der Aggregation vor. Es lehrt uns dieses, dass die fragliche durch jene Präparationsmethode isolirte Schicht nicht etwa ein Artefact ist, sondern ein normaler Bestandtheil des protoplasmatischen Zellleibes, und ferner, dass sie ein besonderes wohl unterschiedenes Organ der Protoplaste darstellt.

Aus den gegebenen Beschreibungen geht hervor, dass bei der Contraction der rothen Saftblasen ein Theil ihres Inhaltes ausgestossen wird. Dieser Theil füllt dann den Raum zwischen jenen Blasen mit rothem Inhalt und dem wandständig gebliebenen Protoplasma. Letzteres besteht nicht nur aus der Hautschicht, sondern auch aus dem circulirenden Protoplasma, und enthält ferner die Chlorophyllkörner und den Kern, welche bei der Aggregation ihre Lage nicht wesentlich verändern.

Dass diese Flüssigkeit aus den verkleinerten Vacuolen stammt, leuchtet ohne Weiteres ein. Erstens weil das Gesammtvolumen der Zelle dabei nicht merklich verändert, und zweitens weil höchst verdünnte ammoniakalische Lösungen und mechanische Reize kräftige Aggregationserscheinungen hervorrufen können, wie Darwin lehrte. In den letzteren Fällen kann offenbar von einer Aufnahme von Stoffen von aussen, als mögliche Ursache der Verkleinerung der Vacuolen, nicht die Rede sein.

Dass andererseits die fragliche Flüssigkeit nicht mit dem Zellsafte identisch ist, geht bereits aus ihrem Mangel an Farbstoff klar hervor. Es ist deshalb von Interesse, ihre Eigenschaften des Näheren zu erforschen. Wir betrachten dazu einerseits die osmotische Anziehung zu Wasser, und andererseits die chemische Zusammensetzung.

Bekanntlich verlieren die Tentakeln, auch während der kräftigsten Aggregation, ihren Turgor nicht. Sie bleiben frisch und steif. Hebt man ihren Turgor z. B. durch Salzlösungen oder durch Eintauchen in heisses Wasser auf, so werden sie schlaff. Es geht hieraus hervor, dass die intracellulär ausgestossene Flüssigkeit nicht etwa reines Wasser ist, sondern eine erhebliche osmotische Kraft besitzt. Um sich über die Grösse dieser Kraft zu orientiren, steht, da es offenbar nicht möglich ist, die Flüssigkeit für eine Analyse zu extrahiren, kein anderer Weg offen, als die Ermittelung der plasmolytischen Grenzconcentration. Man hat die höchste Concentration einer Salpeterlösung zu bestimmen, welche noch gerade keine Plasmolyse hervorruft. Ich fand diese, für das von mir untersuchte Material, zu verschiedenen Zeiten, zwischen 2 und 3 Procent. Die 2procentige Lösung bedingte keine Plasmolyse, oder doch nur in höchst vereinzelten Zellen in sehr geringem Grade, die Tentakeln blieben steif und gekrümmt, die Aggregationsbewegungen wurden nicht merklich gestört. In der 3procentigen Lösung waren die Tentakeln schlaff, die Krümmung verschwunden, alle Protoplaste deutlich, wenn auch wenig contrahirt.

Als ich nun diese Bestimmung mit ungereizten Tentakeln wiederholte, fand ich die Grenze gleichfalls zwischen 2 und 3 Procent KNO_3. Die Turgorkraft ist also in den gereizten, stark aggregirten Zellen wenigstens nahezu dieselbe wie in den ungereizten Zellen; die ausgestossene Flüssigkeit besitzt somit wesentlich denselben isotonischen Werth als der ursprüngliche Zellsaft und also offenbar auch als der in den verkleinerten Vacuolen zurückgebliebene Theil des Zellsaftes. Offenbar findet durch die contrahirten Wände der Vacuolen eine Ausgleichung etwa vorhandener Unterschiede im isotonischen Werthe des inneren und äusseren Zellsaftes statt. Ich erinnere hier an die Thatsache, dass die rothen Blasen, wenn man sie aus durchschnittenen Zellen in einer isotonischen Lösung herausgedrückt hat, platzen, sobald man diese Lösung verdünnt (vergl. S. 468 u. Fig. 14).

Von der bedeutenden osmotischen Kraft der ausgestossenen

Flüssigkeit kann man sich am schönsten durch etwas stärkere Plasmolyse überzeugen. In Fig. 15—17 sind drei Präparate im stark aggregirten Zustande abgebildet; Fig. 15 in 5proc. KNO_3, Fig. 16 in 10proc. KNO_3 und Fig. 17 in 10proc. essigsaurem Natron. Sonst bildet bekanntlich bei der Plasmolyse das ganze Protoplasma einen äusserst dünnen Ueberzug über die Vacuole und ist es meist nicht möglich, die Wand der Vacuole vom übrigen Plasma zu unterscheiden, wie z. B. in den vom Reiz noch nicht erreichten basalen Zellen der Tentakeln. Und wenn in den gereizten Zellen die von den Vacuolen ausgestossene Flüssigkeit reines Wasser wäre, so müsste dieses offenbar von der Salzlösung dem Protoplasten völlig entzogen werden, und die Hautschicht gleichfalls den Vacuolenwandungen dicht anliegen. Dem ist nun aber, wie unsere Figuren lehren, nicht so; beide liegen in bedeutender Entfernung von einander; sie sind durch die ausgestossene farblose Flüssigkeit getrennt, und zwar um so weiter, je schwächer die plasmolysirende Lösung war, je weniger jene Flüssigkeit also durch Wasserabgabe an Volumen eingebüsst hat. Deshalb ist die Erscheinung in Fig. 15 in 5proc. KNO_3 am schönsten. Auch nach etwa 4stündigem Aufenthalte in den Lösungen, nachdem das Reagens also jedenfalls vollständig durchgedrungen war, verkehrten die Zellen in dem abgebildeten Zustande.

Tödtet man durch vorsichtiges Erwärmen die Hautschicht in den in Fig. 15—17 abgebildeten Zuständen, so mischt sich die zwischen den Vacuolenwandungen und der Hautschicht befindliche Flüssigkeit mit dem plasmolytischen Reagens. Dabei erleiden die rothen Blasen keine merkliche Veränderung. Auch diese Thatsache beweist, dass der isotonische Werth jener Flüssigkeit im Zustande der Plasmolyse jedenfalls nicht weit von dem des eingedrungenen Reagens verschieden sein kann.

Ueber die *chemische Zusammensetzung* der ausgestossenen Flüssigkeit ist folgendes zu bemerken. Der Zellsaft enthält ausser dem Farbstoffe folgende gelöste Verbindungen: 1) Traubenzucker, an durchschnittenen Tentakeln in der Nähe der Wunden, wo also das Reagens hinreichend rasch eindringt, mit Fehling'scher Lösung leicht nachweislich; 2) eine Säure oder ein saures pflanzensaures Salz, mittelst Lackmuspapier nachweisbar; 3) einen Gerbstoff; ob dieser vielleicht mit dem Farbstoffe identisch ist, soll hier nicht untersucht werden, er fehlt aber den farblosen Tentakeln nicht und wurde in diesen studirt; 4) einen oder mehrere Eiweisskörper unbekannter Natur, welche den schon im Anfange

erwähnten, sich zusammenballenden Niederschlag auf Zusatz eines Ammoniaksalzes verursachen. Andere gelöste Stoffe werden wohl nicht fehlen, doch habe ich bis jetzt keine finden können.

Von den namhaft gemachten Verbindungen bleiben der Farbstoff, der Gerbstoff und jene Eiweisskörper bei der Aggregation auf den Inhalt der rothen Saftblasen beschränkt, sie werden nicht ausgestossen. Für den Farbstoff ist dies bereits zu wiederholten Malen bemerkt und für die Eiweisskörper soll es im letzten Abschnitt, nach der Behandlung ihrer Eigenschaften, dargethan werden (vgl. Fig. 25—27). Für den Gerbstoff geht obiges Verhalten aus der folgenden Beobachtung hervor.

Einige farblose Tentakeln, welche, nachdem sie abgeschnitten waren, 24 Stunden in einem Tropfen Wasser aufbewahrt waren und nun sehr starke Aggregation zeigten, wurden vielfach zerschnitten, um ein rascheres Eindringen des Reagens zu ermöglichen. Jetzt brachte ich die Stücke in eine concentrirte, etwa 7 Procent haltende Lösung von essigsaurem Kupfer, da ich in Vorversuchen dieses von Moll empfohlene Reagens als dasjenige hatte kennen gelernt, welches auch hier den Gerbstoff am sichersten dort niederschlägt, wo er in der lebenden Zelle vorhanden ist 1). Ich wählte nun eine Zelle in kurzer Entfernung von einer Wunde und mit starker Aggregation, und bildete sie in Fig. 18 ab. Nach einiger Zeit erreichte das Reagens die Zelle am oberen Ende; es entstand dort im Zellsaft ein Niederschlag von gerbsaurem Kupfer zwischen *a* und *b*.

Als nun das Reagens weiter vordrang, schritt auch die Grenze des Niederschlages voran. Nach 4 Minuten zeigte die grosse Vacuole überall zerstreute feine Körnchen, nach 7 Minuten war sie damit dicht erfüllt. Jetzt war die untere Hälfte der Zelle noch ohne Niederschlag; dieses dauerte noch einige Minuten, dann zeigte er sich erst in den mittleren und etwas später in den unteren Vacuolen. In dem Raume zwischen den Vacuolen entstand aber weder jetzt, noch nach längerer Zeit ein Niederschlag; die ausgestossene Flüssigkeit enthielt also keinen Gerbstoff. Nachher habe ich das Kupfersalz ausgewaschen und durch essigsaures Eisen nach Moll's Vorschrift ersetzt; das gerbsaure Kupfer wandelte sich in schwarzes gerbsaures Eisen um, ohne seinen Platz

---

1) J. W. Moll, Een nieuwe microchemische looizuur-reactie. Maandblad voor Natuurwetenschappen. 2. Serie. Band I. S. 97. Vergl. auch: Over looistof-reactiën van *Spirogyra*, *Opera II*, S. 307.

zu verlassen. Als ich nun das Präparat durchmusterte, war in vielen Zellen die Beschränkung des Niederschlages auf den Inhalt der contrahirten Vacuolen deutlich zu erkennen.

Wir wissen jetzt, welche Stoffe die zwischen den Saftblasen und der Hautschicht ausgestossene Flüssigkeit nicht enthält. Es erübrigen von den im Zellsaft nachgewiesenen noch die Säure und der Zucker. Es fehlte mir an einer Methode, diese in jener Flüssigkeit aufzusuchen. Nimmt man aber an, dass diese beiden in diesen Zellen, wie in den meisten Pflanzen, die hauptsächlichsten Träger der Turgorkraft sind, so kann es wohl keinem Zweifel unterworfen sein, dass beide oder eine von beiden zum Theil mit ausgestossen werden. Denn sonst wäre die oben nachgewiesene bedeutende Turgorkraft dieser Flüssigkeit nicht zu erklären.

Ist das Ausscheiden einer Flüssigkeit zwischen den Saftblasen und der Hautschicht an sich schon eine äusserst auffallende Erscheinung, noch merkwürdiger wird diese durch die dabei stattfindende Trennung der gelösten Stoffe des Zellsaftes in solche, welche von den Wänden der Vacuolen umschlossen bleiben und andere, welche ausgeschieden werden. Die Fragen, welche sich uns hier aufdrängen, sind in mechanischer Hinsicht ebenso wichtig wie in biologischer. Durch welche Mittel wird die Trennung und die Ausscheidung bewirkt, und in welcher Beziehung steht dieser Vorgang zu der secernirenden und aufsaugenden Thätigkeit der Drüsen? Ohne Zweifel eröffnet sich hier ein ebenso fruchtbares als schwieriges Feld der experimentellen Forschung.

Der sich zusammenballende Niederschlag. Behandelt man die Tentakeln von *Drosera* mit einer schwachen Lösung von kohlensaurem Ammoniak (0,1 oder 1 Procent), so entsteht in den Zellen ein äusserst feinkörniger Niederschlag. Die Körnchen sind äusserst zahlreich, kugelförmig, und machen lebhafte Molekularbewegungen. Sie liegen im Zellsaft (Fig. 19 *A*). Untersucht man dieselben Zellen einige Zeit nachher, so sind die kleinen Körnchen verschwunden, und an ihrer Stelle liegen wenige grosse Kugeln von dunkelbrauner Farbe. Dabei ist der Zellsaft farblos geworden (Fig. 19 *B*).

Eine genauere Kenntniss erhält man, wenn man den ganzen Vorgang unter dem Mikroskope an Einer Zelle oder Einer Zellengruppe verfolgt. Man beobachtet dann folgendes. Das Reagens dringt nur langsam in die Tentakeln ein, und zwar anscheinend nicht durch die Cuticula, sondern nur von den durchschnittenen Stellen und von den Drüsen aus. Sowohl die grosse Enddrüse, als

die zahlreichen kleinen über den Stiel zerstreuten Drüsen bilden Durchgangsstellen für das Ammoniaksalz. Dieses geht daraus hervor, dass der Niederschlag zuerst in ihrer unmittelbaren Nähe sichtbar wird, und dann sich von hier aus nach allen Seiten allmählich verbreitet. In jeder einzelnen Zelle kann man dem Fortschreiten des Reagens durch die Bildung des Niederschlages leicht folgen.

Die einzelnen lebhaft tanzenden Körnchen sah ich ab und zu zusammenstossen, sie vereinigten sich dann und flossen wie Oeltröpfchen zu einem grösseren Kügelchen zusammen. Dieses Spiel wiederholte sich nun, bis allmählich die Zahl der Tröpfchen sehr bedeutend ab-, ihre Grösse dagegen entsprechend zugenommen hat. Anfangs sind die Kügelchen nicht merklich gefärbt, da sie im dunklen Zellsaft liegen, allmählich aber absorbiren sie den Farbstoff und färben sich dunkel, während der Zellsaft verblasst. Ihre Farbe ist nun wegen der Einwirkung des Ammoniaks auf den Farbstoff eine braune.

Während dieser Zusammenballung erhärten die Kügelchen allmählich. Man sieht dieses sehr oft darin, dass sie nur unvollständig zusammenfliessen. Es entstehen dann statt grösserer Kugeln Formen wie die in Fig. 20 *a*—*c* und 22 bei *c* dargestellten. Solche und ähnliche waren in meinen Präparaten gar nicht selten.

In einer anderen Weise hat Fr. Darwin den Beweis geliefert, dass die fraglichen Kugeln fest und spröde sind. Es gelang ihm, durch vorsichtiges Drücken auf das Deckglas, die Kugeln, wie Lehmballen, zum Zerreissen zu bringen, sie nahmen dann sternähnliche Formen an. Solche sind von diesem Forscher auf Tafel XXIII, Fig. 5 seiner mehrfach citirten Arbeit abgebildet. Seine Erfahrung habe ich vielfach bestätigt; unsere Fig. 21 zeigt einige in dieser Weise von mir zerdrückte Kugeln vor.

An dieser Stelle muss ich ausdrücklich bemerken, dass diese Kugeln nicht, wie Fr. Darwin meint, mit den „aggregated masses", welche durch Reizung in den Zellen entstehen, identisch sind [1]). Letztere sind Blasen mit flüssigem Inhalt; zerdrückt man sie, so platzen sie an einer Stelle, entlassen ihren Inhalt und

1) Aehnliche Niederschläge, wie der hier behandelte, entstehen nach Zusatz von Ammoniaksalzen in den Zellen zahlreicher Pflanzen, auch solcher, denen die physiologischen Aggregationserscheinungen nicht eigen sind. Cf. Ch. Darwin, The Action of Carbonate of Ammonia on the Roots of certain Plants. Journal Linn. Soc. Vol. XIX. p. 239. 1882.

schrumpfen als farblose Massen zusammen, wie ich dies bereits oben beschrieben habe.

Seinen Reactionen nach gehört der Niederschlag zu der Gruppe der Eiweisskörper. In dieser Beziehung habe ich den Erfahrungen meiner Vorgänger, Ch. Darwin, Fr. Darwin und Pfeffer nichts zuzufügen. Die Absorption des im Zellsaft gelösten Farbstoffes stellt ein erstes Argument dar. Auch Carminammoniak absorbirten die Kugeln, wenn ich sie vorher, durch mehrtägiges Aussüssen mit Wasser, völlig entfärbt hatte. Jodlösung färbt die entfärbten Kugeln braun, Millon's Reagens ziegelroth. Zuckerwasser und concentrirte Schwefelsäure erzeugen eine rosenrothe Farbe; Schwefelsäure löst sie nicht auf. Salpetersäure färbt gelb und Ammoniak erhöht den gelben Ton. In zerschnittenen Tentakeln sind diese Reactionen in der Nähe der Schnittflächen am schärfsten.

Eigenthümlich ist das Verhalten gegen Essigsäure. Diese entfärbt die Kugeln. Der durch die Säure wieder roth gewordene Farbstoff diffundirt in die Umgebung hinaus, doch nur langsam. Inzwischen entstehen in den Kugeln anscheinend Hohlräume, meist einer in jeder Kugel (Fig. 23), bisweilen mehrere, welche dann oft nachher zu einem einzigen verschmelzen (Fig. 24 *B*). Dabei wird die Kugel allmählich grösser und schrumpft dann wieder zusammen (Fig. 24 *A a—c* und *B a—c*), indem auch die Hohlräume kleiner werden. Nicht selten werden die Kugeln endlich völlig farblos und mehr oder weniger durchsichtig, oder verschwinden anscheinend. Vollständig aufgelöst werden sie nicht. Ob dieses Verhalten auf die Anwesenheit mehrerer Eiweisskörper oder nur auf verschiedene Grade der Coagulation deutet, muss einstweilen dahingestellt bleiben.

Nicht nur durch Zusatz von Ammoniaksalzen entsteht der sich zusammenballende Niederschlag mit den beschriebenen Eigenschaften. Auch freies Ammoniak im verdünnten Zustande ruft ihn hervor. Ebenso verhalten sich Jodlösung und Osmiumsäure; das letztere färbt die anfangs rothen Kügelchen nachher schwarz. Auch ohne Reagentien, beim langsamen Tode kann der Niederschlag entstehen, so z. B. erhielt ich ihn durch sehr langsames Austrocknen der Tentakeln und durch mehrtägiges Aufbewahren im hängenden Tropfen des feuchten Raumes. Bisweilen fand ich auch in frisch von der Pflanze abgetrennten Tentakeln, namentlich von mit Eiweiss gefütterten Blättern, einzelne oder mehrere Zellen mit diesem Niederschlag erfüllt; sie waren hart und konnten in sternähnliche Formen (Fig. 21) zerdrückt werden. Die be-

treffenden Zellen schienen mir sterbend, aber noch nicht völlig gestorben.

Plötzliches Tödten durch Alkohol oder durch Wärme ruft den Niederschlag nicht hervor, und vernichtet sogar das Vermögen, ihn beim nachherigen Zusatz der oben genannten Reagentien entstehen zu lassen. Vielleicht ist dabei der Eiweisskörper in anderer Weise geronnen.

Die Entstehung des Niederschlages während der Aggregation. In der Einleitung habe ich gesagt, dass Darwin den sich zusammenballenden Niederschlag nicht scharf von den physiologischen Erscheinungen der Aggregation unterschieden hat, und dass spätere Forscher beide geradezu mit einander verwechselt haben. Um nun einen einfachen Beweis zu liefern, dass beide in der That völlig von einander verschieden sind, thut man am Besten, den Niederschlag während der Aggregation hervorzurufen. Aus meinen diesbezüglichen Versuchen wähle ich folgende Beispiele aus.

In Fig. 25 *A* ist eine Zelle aus einer Tentakel eines am vorigen Tage mit Eiweiss gefütterten Blattes abgebildet. Die Vacuole war in Folge der Aggregation merklich kleiner geworden, hatte sich aber nicht getheilt. Die Tentakel war unter dem Deckglas von einer 1procentigen Lösung von kohlensaurem Ammoniak umgeben, und das Salz drang in unsere Zelle von unten her ein. Wenige Minuten, nachdem ich die Skizze für Fig. 25 *A* angefertigt hatte, zeigte sich der in Fig. 25 *B* dargestellte Zustand. Am unteren Ende der Vacuole, und nur in dieser, tanzten die ersten Körnchen; ihre Zahl nahm rasch zu, indem sie den Raum dichter erfüllten und sich weiter hinauf erstreckten. Dieses dauerte so lange, bis die ganze Vacuole vom Niederschlage durchdrungen war. Inzwischen hatten sich im unteren Ende die Kügelchen zu grösseren Körperchen zusammengeballt, und sich auf Kosten des Zellsaftes gefärbt (Fig. 25 *C*). Während dieses ganzen Processes blieb die Form der Vacuole unverändert, ihre Grenze völlig scharf; nur ihre Farbe wurde anfangs brauner und verblasste nachher allmählich.

In Fig. 26 *A* ist eine gleichfalls durch Fütterung des Blattes mit Eiweiss in starke Aggregation versetzte Zelle abgebildet. Die Vacuole war in mehrere grosse Stücke getrennt; jeder Theil deutlich von einer für den Farbstoff impermeablen Wand umgeben. Der Zellsaft war nur blassroth, die Bildung des Niederschlages daher leicht zu verfolgen. Als die Tentakel unter Deckglas von einer 1procentigen Lösung von kohlensaurem Ammoniak umge-

ben war, drang das Salz in diese Zelle von unten her ein. Zuerst entstand der Niederschlag in der unteren Vacuole, dann in der nächstfolgenden u. s. w. Neben der Figur habe ich die Minuten angegeben, nach denen der Niederschlag jedesmal die betreffende Höhe erreicht hatte. In jeder Vacuole entstand er zunächst im unteren Theile und breitete sich dann allmählich aufwärts aus. Noch bevor die obere Vacuole erreicht war, hatte in der unteren bereits Zusammenballung angefangen; als diese zum grossen Theile vollendet war, habe ich die Zelle wiederum gezeichnet (Fig. 26 *B*).

Die beiden mitgetheilten Beispiele lehren uns zwei wichtige Thatsachen. Erstens: der Niederschlag entsteht während der Aggregation nur in den Vacuolen selbst, nicht im ausgestossenen farblosen Zellsaft; der betreffende Eiweisskörper wird also nicht mit ausgestossen. Hierüber haben wir schon in einem früheren Abschnitt gehandelt. Zweitens: Die Grenzen der Vacuolen bleiben während und nach der Entstehung des Niederschlages völlig scharf, und wenigstens anfangs für den gelösten Farbstoff impermeabel. Es kann somit keinem Zweifel unterliegen, dass Vacuolen und Niederschlagskugeln durchaus verschiedene Sachen sind.

Allerdings ist es nicht immer leicht, beide von einander zu unterscheiden. Solches ist namentlich der Fall, 1) wenn man die Aggregation selbst durch kohlensaures Ammoniak hervorruft und 2) wenn die Vacuole in zahlreiche kleine Tropfen von derselben Grösse wie die Niederschlagskugeln zertheilt ist. Im ersteren Falle ist aber zu bemerken, dass zur Erzeugung des physiologischen Reizes, wie Darwin lehrte, nur minimale Mengen des Reagens erforderlich sind. Durch sehr verdünnte Lösungen kann man also die Aggregation hervorrufen, ohne den Niederschlag zu befürchten zu haben. Oder man beobachtet Zellen, welche von den nächstbenachbarten Durchgangsstellen der Cuticula (den Drüsen) weit entfernt sind; es dringt das Salz zu diesen so langsam vor, dass man häufig stundenlang die Aggregation verfolgen kann, bevor endlich der Niederschlag eintritt.

Aeusserst kleine Vacuolen sind von Niederschlagskugeln oft gar nicht zu unterscheiden, namentlich wenn beide gleichzeitig in derselben Zelle vorhanden sind. Platzen die Blasen bei Erwärmung, und bekommen die Kugeln beim Zerdrücken zahlreiche Risse wie in Fig. 21, so kann ihre Natur nicht zweifelhaft sein. Oft aber liessen mich diese und andere Merkmale im Stiche, und ich musste für bestimmte Fälle die Frage unentschieden lassen.

Dadurch wird aber der Satz, dass beide thatsächlich grundverschieden sind, offenbar nicht berührt.

In Fig. 27 ist eine Zelle abgebildet, welche in der oberen Hälfte mehrere kleine rothe Vacuolen in einer farblosen Umgebung und in der unteren Hälfte Eine grosse Vacuole hatte. In dieser war durch kohlensaures Ammoniak der Zellsaft braun gefärbt und ein Niederschlag erzeugt, der sich bereits zu Kugeln von annährend derselben Grösse wie jene kleine Vacuolen zusammengeballt hatte. Der Unterschied war aber unzweifelhaft.

In Fig. 28 sieht man endlich, innerhalb ganz kleiner Vacuolen, den Niederschlag als deutliche zusammengeballte Körper liegen.

Aus diesen beiden Beispielen ist es klar, dass auch in solchen Fällen der Unterschied zwischen den aggregirten Vacuolen und dem zusammengeballten Niederschlag oft nicht zu verkennen ist.

Fassen wir die Ergebnisse dieser Untersuchung kurz zusammen, so können wir folgendes sagen. Die Reize, welche die Drüsen von *Drosera rotundifolia* und anderen insektenfressenden Pflanzen zu erhöhter Ausscheidung ihres Secretes veranlassen, rufen in den Zellen dieser Drüsen und ihrer Stiele eigenthümliche, sehr lebhafte Bewegungen hervor, welche von Darwin entdeckt und mit dem Namen der *Aggregation* belegt sind. Diese Bewegungen sind vorwiegend aus drei Factoren zusammengesetzt: 1) Eine beschleunigte und vielfach stärker differenzirte Circulation des wandständigen Protoplasma. 2) Eine Theilung der Vacuole in mehr oder weniger zahlreiche kleinere, welche dabei alle von einem Theile der ursprünglichen Wand der Vacuole umschlossen bleiben. 3) Eine sehr bedeutende Verminderung des Volumens dieser Vacuolen, bei der ein Theil ihrer Masse durch ihre Wand hindurch ausgestossen wird und sich zwischen dieser und dem circulirenden Protoplasma ansammelt. Die ausgestossene Flüssigkeit hat, wenigstens annähernd, dieselbe Anziehung zu Wasser wie die zurückbleibende, aber eine andere chemische Zusammensetzung, indem der Farbstoff und gewisse gelöste Eiweisskörper nicht mit ausgeschieden werden. Diese Eiweisskörper kann man mittelst Ammoniaksalze in Form eines feinkörnigen, sich allmählig zu grösseren Kugeln zusammenballenden, anfangs weichen, aber später erhärtenden Niederschlages ausscheiden; solches geschieht aber im normalen Aggregationsprocesse nicht. Hat die Wirkung des Reizes aufgehört, so kehren die Zellen allmählich zu ihrem ursprünglichen Zustande zurück, indem die Vacuolen sich wieder vergrössern und zusammenfliessen.

Erklärung der Abbildungen.

Alle Figuren stellen Zellen aus den Randtentakeln der Blätter von *Drosera rotundifolia*, oder einzelne Inhaltstheile solcher Zellen vor. Vergrösserung 300/1. Die Pfeilchen geben, ausser in Fig. 25 und 26, die Richtung der Circulationbewegung an. *k* Zellkern, *A*, *B*, *C* u. s. w. auf einander folgende Zustände derselben Zelle; die Intervalle zwischen diesen sind, wo nöthig, unter den Figuren in Minuten angegeben.

Fig. 1. Eine Zelle im ungereizten Zustand, mit rothen Zellsaft, Zellkern (*k*) und wandständigen Strombahnen des circulirenden Protoplasma (*a*, *a*').

Fig. 2. Durch Behandlung mit 10proc. KNO_3 ist in einer farblosen Zelle die Hautschicht mit den Chlorophyllkörnern getödtet und ohne Contraction fixirt. Die Vacuole hat sich dabei mit ihrer Wand isolirt und in vier Theile getheilt, welche als farblose Kugeln sichtbar sind. Die todten Theile mit Eosin gefärbt.

Fig. 3. Eine farblose Zelle mit normaler Plasmolyse in 10proc. KNO_3+Eosin; das äussere Plasma nachher gestorben und vom Eosin gefärbt.

Fig. 4. Eine rothe Zelle in 10proc. essigsaurem Natron. Das äussere Plasma ist gestorben und contrahirt und liegt neben der von ihrer Wand umgebenen Vacuole.

Fig. 5. Erstes Stadium der Aggregation. *a b* Grenze zwischen zwei Vacuolen, welche in *A* unscharf ist und in *B* und *C* schärfer wurde. *e f* und *g h* andere solche Grenzen, in ihrem ersten Sichtbarwerden. Vergl. Fig. 6.

Fig. 6. Aehnliches Stadium. *a b* wie in Fig. 5. *c*, *d*, *e* Gruppen von kleinen Vacuolen, welche von den Strömen des Protoplasma mitgeführt wurden. Die rothen Felder sind in Fig. 5 und 6 in der Lithographie etwas zu klein geworden.

Fig. 7. Ein folgendes Stadium, mit merklicher Contraction der Vacuolen.

Fig. 8. Ein ähnliches Stadium, *s* röhrenförmige Vacuolen. Die Vacuolen *a*, *b*, *c* in *C* schmelzen zu *d* und *c* in *D* und zu *e* (*c*) in *E* zusammen.

Fig. 9. Sehr starke Aggregation. Die Vacuolen werden von deutlichen Protoplasmakörnchen mitgeführt. In der unteren Hälfte schmelzen sie zusammen. *E* 1—6 rasche Formänderungen der in *D* abgebildeten röhrenförmigen Vacuole.

Fig. 10. Oberer Theil einer Zelle mit starker Aggregation. Die Va-

cuolen werden offenbar von unsichtbaren Protoplasmaströmchen mitgeführt. Die Zustände *A*—*I* wurden in einer Viertelstunde durchlaufen.

Fig. 11. *a* röhrenförmige Vacuolen, *b* dieselben nach der Einschnürung, *c* nach der Durchschnürung.

Fig. 12. Eine Zelle mit starker Aggregation; in der unteren Hälfte die Vacuolen von einem deutlichen Strömchen mitgeführt.

Fig. 13. Eine ähnliche Zelle, durch vorsichtiges Erwärmen bis auf die Vacuole *a* getödtet. Die Vacuole *b* war bei *c* zerrissen.

Fig. 14. Eine ähnliche Zelle, aber durchschnitten. Eine Vacuole, welche erst bei *a*, *b* lag, trat unter dem Druck des Deckglases aus der Zelle heraus.

Fig. 15. Starke Aggregation. Nachher Plasmolyse in 5proc. KNO_3.

Fig. 16. Ebenso in 10 proc. KNO^3.

Fig. 17. Ebenso in 10proc. essigsaurem Natron.

Fig. 18. Starke Aggregation. Nachher in essigsaures Kupfer gebracht. Nur in den Vacuolen entsteht der Niederschlag von gerbsaurem Kupfer.

Fig. 19. *A* eine Zelle ohne Aggregation; durch Zusatz von kohlensaurem Ammoniak ist ein anfangs feinkörniger Niederschlag im Zellsaft entstanden. *B* dieser ballt sich zu grösseren Kugeln zusammen.

Fig. 20. Unvollständig zusammengeballte Kugeln desselben Niederschlages.

Fig. 21. Kugeln dieses Niederschlages, durch Druck auf das Deckglas zu sternähnlichen Formen eingerissen.

Fig. 22. Aehnliche Kugeln in einer durch Aggregation verkleinerten Vacuole.

Fig. 23. Einwirkung von Essigsäure auf diese Kugeln, sie werden zuerst roth, dann allmählich entfärbt und bekommen Höhlungen im Innern.

Fig. 24. Dasselbe; *A* und *B* zwei Kugeln, *a* vor Einwirkung der Essigsäure, *b* dieselben nach der Einwirkung, *c* dieselben noch später. Dauer der Beobachtungen etwa 10 Minuten.

Fig. 25. Einwirkung von kohlensaurem Ammoniak auf eine schwach aggregirte Zelle; *A* vor der Einwirkung, *B* beim Anfang, *C* etwas später. Im Zellsaft entsteht der sich zusammenballende Niederschlag. Der Pfeil bedeutet die Richtung, in der das Reagens vorschreitet.

Fig. 26. Dasselbe in einer stärker aggregirten Zelle. Bedeutung des Pfeiles wie in Fig. 25. In *A* ist die obere Grenze des Niederschlages nach 4, 6, 8 und 9 Minuten angegeben. *B* etwa nach einer Viertelstunde; der Niederschlag hat sich zusammengeballt.

Fig. 27. Aehnlicher Zustand; der Niederschlag ist auf die untere Hälfte der stark aggregirten Zelle beschränkt geblieben.

Fig. 28. Aehnlicher Zustand. Kugeln des Niederschlages in kleinen Vacuolen.

(Botanische Zeitung 1886, S. 1).

Ueber die Aggregation im Protoplasma von Drosera rotundifolia.

Fig. 1. Fig. 2. Fig. 3. Fig. 4.

Fig. 5. A. B. 5 Min. D. 8 Min. E. 12 Min. F. 16 Min.

Fig. 6. A. Anf. B. 5 Min. C. 6 Min. D. 8 Min. E. 9 Min. F. 13 Min. G. 14 Min. H. 17 Min. I. 21 Min.

Fig. 7.

Fig. 8. A. B. 4 Min. C. 18 Min. D. 19 Min. E. 20 Min.

Fig. 11. a. b. c.

E. 1. a 2. a 3 4 5 a 6. a

A. B. C. D.

Fig. 9.

Fig. 10.

E. F. G. H. I.

a. b. c.

B.

Fig. 12. a b

Fig. 13. a b c

Fig. 19. A B.

Fig. 26. A B. 9 Min. 8 Min. 6 Min. 4 Min. k k

Fig. 14. α β

Fig. 18. a b

Fig. 27.

Fig. 28.

Fig. 20. a. b. c.

Fig. 21. a. b. c.

Fig. 16. k k

Fig. 17.

Fig. 25. A. B. C.

Fig. 22. v c

Fig. 23.

Fa. P. W. M. Trap impr.

DÉTERMINATION DU POIDS MOLÉCULAIRE DE LA RAFFINOSE, PAR LA MÉTHODE PLASMOLYTIQUE.

Les lois des coefficients isotoniques, que j'ai énoncées dans *l'Opera II*, p. 125 1), permettent la détermination du poids moléculaire de toutes les substances dont les solutions aqueuses peuvent provoquer dans les cellules végétales le phénomène de la plasmolyse. En effet, on n'a qu'à rechercher des concentrations isotoniques, ou de force osmotique égale, du corps en question et d'un corps du même groupe, dont le poids moléculaire est connu. Car, d'après les propositions citées, ces solutions contiendront par litre environ le même nombre de molécules dissoutes.

J'ai appliqué ce principe à la détermination du poids moléculaire de la raffinose. Cette substance, découverte en 1876 par M. Loiseau dans les mélasses, et remarquable par son pouvoir rotatoire beaucoup plus grand que celui du sucre de canne, a été l'objet d'une longue controverse concernant sa composition moléculaire. M. Loiseau avait trouvé pour elle la formule $C^{18}H^{32}O^{16} + 5\ H^{2}O$. Mais bientôt M. Tollens réussit à démontrer l'identité de ce sucre avec la gossypose, retirée par MM. Ritthausen et Böhm des graines de coton, et M. Scheibler prouva que ces deux substances sont identiques à la mélitose, extraite par M. Johnston de la manne d'Australie et étudiée sutout par M. Berthelot. Or la formule attribuée par M. Ritthausen à la gossypose était $C^{12}H^{22}O^{11} + 3H^{2}O$, et M. Berthelot avait trouvé la même composition pour la mélitose. M. Tollens se déclara pour la dernière formule, M. Scheibler pour celle de M. Loiseau, tous les deux en s'appuyant sur la détermination de l'eau de cristallisation, la composition élémentaire exprimée par les deux formules étant la même.

La détermination de l'eau de cristallisation (13,64 pour 100 pour la formule de MM. Berthelot et Ritthausen, 15,15 pour 100 pour celle de M. Loiseau) était sujette à des difficultés particulières, parce que la raffinose se colore et se caramélise, quand on

1) Voir aussi: *Opera II*, p. 100.

la chauffe avec toutes les précautions usitées à 120°—130° C., avant d'avoir atteint un poids constant. M. Scheibler se servit pour cette raison d'une autre méthode; il dessécha la substance préalablement dans le vide, en présence de l'acide sulfurique, pendant quatorze jours, après quoi elle atteignit dans le bain-marie à 100° C. un poids constant. La raffinose perdit, par cette méthode, en tout précisément 15,15 pour 100 de son poids originel.

La question paraissait donc décidée en faveur de l'opinion de M. Loiseau. Mais M. Tollens n'attribua qu'une valeur limitée à l'expérience de M. Scheibler et fit connaître de nouvelles recherches faites par lui en collaboration avec M. Rischbiet. Celles-ci les conduisirent à l'énonciation des deux faits suivants. En combinant la raffinose au sodium, ils avaient preparé une substance dont la formule ($C^{12}H^{21}NaO^{11}$) se conformait bien à celle de M. Berthelot, mais non pas à celle de M. Loiseau. Mais, en étudiant la quantité d'acide mucique qu'on obtient en traitant la raffinose par l'acide nitrique, ils trouvèrent un produit (22—23 pour 100) conforme à la dernière et non pas à la première des deux formules en question. Ces auteurs se trouvèrent donc conduits à accepter des molécules plus grandes, qui suffiraient en même temps à l'explication de ces deux faits nouveaux. Ils doublèrent dans ce but la formule de M. Loiseau et la portèrent à $C^{36}H^{64}O^{32} + 10\ H^2O$; ils se conformèrent donc, quant à l'eau de cristallisation, à l'opinion de MM. Loiseau et Scheibler.

En somme, on a donc pour la raffinose (mélitose, gossypose) le choix entre les trois formules suivantes:

	Eau de cristallisation. Pour 100	Poids moléculaire.	
$C^{12}H^{22}O^{11} + 3\ H^2O$	13,64	396	Berthelot et Ritthausen
$C^{18}H^{32}O^{16} + 5\ H^2O$	15,15	594	Loiseau et Scheibler
$C^{36}H^{64}O^{32} + 10\ H^2O$	15,15	1188	Tollens et Rischbiet

La décision entre ces trois opinions, incertaine en étudiant seulement les qualités chimiques de la raffinose, devient très facile quand on combine à ces études la détermination de la force osmotique des solutions diluées.

Dans ce but, j'ai comparé la raffinose au sucre de canne, en choisissant comme indicateur le commencement de la plasmolyse dans les cellules violettes de l'épiderme de la nervure médiane des feuilles du *Tradescantia discolor*, une des espèces que j'avais em-

ployées, il y a cinq ans, pour la détermination des coefficients isotoniques. J'ai recherché de cette manière la concentration moléculaire du sucre de canne ayant la même force osmotique que le suc cellulaire de ces feuilles et la concentration isotonique de la raffinose. Pour chaque expérience, j'ai fait usage de cellules prises sur la même feuille et à peu de distance les unes des autres. La raffinose a été dissoute en cristaux et sa concentration a été calculée avec l'eau de cristallisation.

Les quatre expériences m'ont donné les concentrations isotoniques suivantes:

Expériences.	Sucre de canne.	Raffinose.	Concentration de la raffinose isotonique à $0^{mol},1$ de sucre de canne.
	mol.	Pour 100.	Pour 100
I	0,19	10,5	5,526
II	0,17	10,5	6,176
III	0,17	10,0	5,882
IV	0,20	12,5	6,250
		En moyenne...........	5,957

Une solution contenant 5,957 pour 100 de raffinose cristallisée est donc isotonique à une solution de $0^{mol},1$ de sucre de canne. Elle contient donc elle-même environ $0^{mol},1$ de raffinose par litre. Le poids moléculaire de la raffinose doit donc être très voisin du chiffre 595,7.

Si nous comparons ce résultat aux poids moléculaires dérivés des trois opinions citées ci-dessus (396, 594, 1188), nous voyons que la détermination de la force osmotique de la raffinose décide en faveur de l'opinion exprimée par M. Loiseau et soutenue par M. Scheibler.

(12 mars 1888.)

(Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris, T. CVI, p. 751).

UEBER DEN ISOTONISCHEN COËFFICIENT DES GLYCERINS.

Im vergangenen Jahre fand Klebs, dass Glycerin viel leichter als alle übrigen, bis jetzt geprüften Substanzen, durch das lebende Protoplasma von *Zygnema* in das Zellinnere hinein diffundiren kann [1]). Diese merkwürdige Entdeckung verspricht diesem Körper sowohl auf plasmolytischem Gebiete, als auch in der Ernährungslehre eine hervorragende Bedeutung. Letzteres namentlich in Verbindung mit der von Arthur Meyer aufgefundenen [2]), und von Klebs bestätigten Thatsache, dass grüne Pflanzentheile aus Glycerin im Dunkeln Stärke bilden können [3]). Denn einerseits gelang es Klebs, eine grüne Pflanze im Dunkeln an eine rein saprophytische Lebensweise zu gewöhnen, andererseits lässt sich erwarten, dass das Glycerin auch in der normalen Pflanze eine wichtige Rolle spielt. Unsere Kenntniss von den Ernährungsvorgängen ist keineswegs eine so vollständige, dass sie eine solche Möglichkeit ausschliesst. Es sei mir gestattet, dies durch ein Beispiel zu erläutern. Nach dem Vorgange von Sachs nimmt man gewöhnlich an, dass die stickstofffreien Bildungsstoffe in der Pflanze vorwiegend in der Form des Traubenzuckers wandern. Ich habe aber nachgewiesen, dass auf den betreffenden Bahnen sich der Traubenzucker nur dann mikrochemisch nachweisen lässt, wenn er in den Zellen, aus irgend einem Grunde, angehäuft ist. Häufig gelingt dieser Nachweis auf einer kürzeren oder längeren Strecke der Bahn gar nicht, obgleich aus physiologischen Gründen kein Zweifel darüber obwalten kann, dass der Transport dort genau ebenso kräftig ist, als auf den mit accumulirenden Zellen besetzten Strecken. Eine Reihe von Beispielen dieser *„unterbrochenen Bahnen"* habe ich in meiner Wachsthumsgeschichte der

1) G. Klebs, in den Berichten d. d. bot. Gesellsch. 1887. Bd. V. 5. S. 187 und Arb. d. Bot. Instituts Tübingen. II. S. 489.

2) Arthur Meyer, in Botan. Zeitung 1886. S. 81.

3) Die künstliche Synthese von Glucose aus Glycerin-Aldehyd ist neulich Fischer und Tafel gelungen. (Berichte d. deutschen chemischen Gesellschaft. 1887).

Zuckerrübe zusammengestellt [1]). Der Satz, dass die stickstofffreien Transportstoffe vorwiegend Traubenzucker sind, ist also auf mikrochemischem Wege bis jetzt keineswegs bewiesen worden. Sollte sich nun herausstellen, dass allgemein das Glycerin viel leichter wie der Traubenzucker durch lebendiges Protoplasma diffundirt, und dass die Bildung von Traubenzucker und Stärke aus Glycerin ebenso allgemein im Pflanzenreich verbreitet ist, so würde die Frage erlaubt sein, ob nicht vielleicht Glycerin eine wichtige Rolle bei jenem Transport spiele?

In diesen und anderen Hinsichten wird das Glycerin voraussichtlich immer mehr die Aufmerksamkeit der Forscher auf sich lenken. Dabei wird es häufig erforderlich sein, die Concentration seiner Lösungen mit denen anderer Substanzen zu vergleichen. Hierzu ist aber die Kenntniss des isotonischen Coëfficienten des Glycerins unerlässlich, und es schien mir deshalb eine experimentelle Bestimmung dieser Grösse, im Anschluss an meine früheren Ermittelungen isotonischer Coëfficienten, geboten.

Allerdings lässt sich der gesuchte Werth mit hinreichender Sicherheit aus meinen Gesetzen der isotonischen Coëfficienten ableiten [2]). Umsomehr, da diese mit Pflanzenzellen ermittelten Gesetze durch Hamburger's schöne Untersuchungen mit Blutkörperchen eine volle Bestätigung erfahren haben [3]) Sie führen zu dem Schlusse, dass das Glycerin denselben Coëfficienten haben muss, wie die übrigen organischen metallfreien Verbindungen, dass dieser Werth somit nahezu = 2 ist. Dasselbe lehrt die, durch Raoult's ausgedehnte Untersuchungen bestätigte Beziehung zwischen der Gefrierpunktserniedrigung und dem isotonischen Coëf-

---

1) Landwirthschaftliche Jahrbücher. Bd. VIII. 1879. S. 444. Zu beachten ist auch, dass das neuerdings von Grimaux dargestellte Glycerin-Aldehyd nicht nur gährungsfähig ist, sondern auch die Fehling'sche Lösung reducirt (Comptes rendus T. 105. Dec. 1887. N. 24. S. 1175). Ueberhaupt bedarf die übliche Methode des Nachweises von Glucose in miskroskopischen Präparaten augenblicklich sehr einer kritischen Prüfung.

2) Eine Methode zur Analyse der Turgorkraft, *Opera II,* S. 216.

3) H. J. Hamburger, Ueber den Einfluss chemischer Verbindungen auf Blutkörperchen im Zusammenhang mit den Moleculargewichten, im Archiv für Anatomie und Physiologie 1886. Physiol. Abth. S. 476. Vrgl. auch ibidem 1887. S. 31 und „Onderzoekingen uit het physiologisch Laboratorium der Utrechtsche Hoogeschool" von Donders und Engelmann. 3. Reihe. Bd. IX, S. 26 u. Bd. X, S. 35.

ficienten 1). Eine Vergleichung der betreffenden Zahlen werde ich weiter unten geben.

Ist aber eine experimentelle Bestätigung des berechneten Werthes bei der voraussichtlich grossen physiologischen Bedeutung des Glycerins immerhin erwünscht, noch mehr ist solches in methodischer Hinsicht der Fall. Denn gerade die von Klebs nachgewiesene Permeabilität des Protoplasma für Glycerin lässt es von vornherein als zweifelhaft erscheinen, ob eine solche Bestimmung gelingen wird. Inwiefern dieses thatsächlich der Fall ist, werden wir am Schlusse dieses Aufsatzes sehen.

Die Permeabilität des Protoplasma für Glycerin. Vor allem war es wünschenswerth zu erfahren, inwiefern die Angabe von Klebs sich auf andere Arten wie *Zygnema* ausdehnen lässt. Und da ich bei meinen „Plasmolytischen Studien über die Wand der Vacuole" vorwiegend mit *Spirogyra nitida* experimentirt habe, so habe ich auch jetzt zunächst die Versuche mit dieser Art wiederholt. Da diese Versuche eine volle Bestätigung des von Klebs für *Zygnema* gefundenen enthalten, sei es mir gestattet, sie hier kurz zu erwähnen.

Klebs fand, dass von zahlreichen geprüften organischen und anorganischen Substanzen Glycerin bis jetzt die einzige ist, deren directes Eintreten in die lebende Zelle von *Zygnema*, ohne eine Schädigung zu veranlassen, sich nachweisen liess. In 5 und 10 % trat anfangs Plasmolyse ein, welche aber durch allmähliche Aufnahme des Glycerins schon in den ersten Stunden zurückging; nachher lebten die Fäden in diesen Lösungen im Dunkeln wochenlang; in 5 % trat anfangs Wachsthum ein und erhielten sich die Zellen im Dunkeln während 4 Monate und länger frisch und lebendig. Entstärkte *Zygnemen* bildeten im Dunkeln aus Glycerin Stärke 2).

Die *Spirogyra nitida* aus meinen Culturen wurde von 3 % Glycerin nicht, von 3,3 % schwach plasmolysirt 3). Brachte ich Fäden

---

1) *Opera II* S. 222. Raoult's Arbeiten finden sich in den Comptes rendus von 1884 bis 1888 und ausführlicher in den Annales de Chimie et de Physique. 5. Série. T. XXVIII. 1883; 6. Série. T. II. 1884 und T. IV. 1885. Vergl. auch van 't Hoff, Equilibre chimique à l'état dilué. Arch. Néerl. T. XX. 1886. S. 239.

2) G. Klebs, l. c. S. 187.

3) Ich habe meine Lösungen entweder nach Gramm-molecülen pro Liter dargestellt, oder derart, dass sie mit solchen Lösungen des Salpeters isotonisch waren. Erst nachher habe ich sie in Procente umgerechnet.

in Lösungen von 3,3, 3,5 und 3,7 %, so verschwand die nach einer halben Stunde beobachtete Plasmolyse innerhalb 24 Stunden. In Lösungen von 6,9 % lösten sich die Protoplaste allseitig von der Zellhaut los und contrahirten sich zu Kugeln und ellipsoidischen Figuren. Nach zwei Tagen war aber die Plasmolyse wieder ausgeglichen, und die anfangs völlig schlaffen Fäden waren wieder frisch und steif. Als ich nun solche Fäden in isotonische Lösungen von Kalisalpeter (5 %). Chlornatrium (2,9 %), Traubenzucker (13,5 %), und Rohrzucker (25,6 %) brachte, trat in ihnen keine Plasmolyse ein; die Concentration des Zellsaftes hatte also durch Aufnahme von Glycerin bedeutend zugenommen. Und zwar, da die plasmolytische Grenzconcentration in Rohrzucker ursprünglich bei 10 % lag, um mehr als das Doppelte. In einer Lösung von 10 % Kalisalpeter, welche die normalen Zellen sehr stark plasmolysirt, contrahirten sich die Protoplaste dieser Fäden nur schwach. In Lösungen von KNO^3, Na Cl und den beiden genannten Zuckerarten, welche mit 4,1 % Glycerin isotonisch waren, trat in den normalen Fäden meiner *Spirogyra* schwache Plasmolyse ein, diese verschwand aber nachher nicht. Diese Substanzen dringen also bei Weitem nicht so leicht durch das Protoplasma hindurch, wie Glycerin.

Zur Controle habe ich auch Fäden in 4,1 % Glycerin gebracht, dann nach einem Tag in 5,5 %, und nach einem weitern Tag in 6,9 %. Sie blieben hier nun wochenlang frisch und lebendig.

Stärkebildung im Dunkeln in vorher durch Verdunkelung [1]) entstärkten Fäden beobachtete ich in Lösungen von 4,1 %, bei etwa 25° C. Schon nach e i n e m Tage, als die Plasmolyse noch nicht völlig verschwunden war, hatte die Stärkebildung bereits angefangen; nach drei Tagen waren die Amylumkerne der Chlorophyllbänder jeder von zahlreichen kleinen, sich mit Jod bläuenden Körnchen umgeben. In schwächeren Lösungen (0,15 bis 2,8 %) und bei 12° C. bildeten entstärkte *Spirogyren* im Dunkeln in meinen Versuchen, wenigstens in vielen Tagen, keine Stärke. Doch blieben sie dabei viel länger frisch und lebendig, als die Fäden, welche zur Controle im Dunkeln einfach in Wasser aufbewahrt wurden. Offenbar reichte das aufgenommene Glycerin zwar zur Ernährung und zum Wachsthum, nicht aber zur Anhäufung von Reservematerial hin. Wichtig ist aber, dass nicht nur plasmo-

1) Den auffallenden Einfluss des Lichtmangels auf den Bau der Zellen von *Spirogyra* hat Famintzin beschrieben. Mélanges biologiques. T. VI. 1867. S. 277.

lysirende, sondern auch sehr schwache Lösungen in das lebende Protoplasma hineindringen können. Auch in Lösungen von Traubenzucker und Rohrzucker lebten entstärkte *Spirogyren* im Dunkeln bedeutend länger als in reinem Wasser. Ich benutzte Concentrationen, welche nicht plasmolysirten und zwar 1,3 und 2,7 % Traubenzucker, und 2,56 und 5,13 % Rohrzucker. Diese sind mit 0,5 und 1,0 % KNO^3 und also auch mit 0,69 und 1,38 % Glycerin isotonisch.

Lässt man Fäden, welche in 6,9 % Glycerin ihre Plasmolyse völlig ausgeglichen haben, nun in einer isotonischen Rohrzuckerlösung (25,65 %) weiter vegetiren, so verschwindet das Glycerin, theils durch Verbrauch, theils durch Diffusion, in wenigen Tagen so vollständig, dass die Zellen allmählich sehr stark plasmolysirt werden, obgleich sie in den ersten Stunden die erwähnte Zuckerlösung ohne Contraction ertrugen.

Nachdem somit festgestellt war, dass *Spirogyra* sich dem Glycerin gegenüber genau so verhält, wie *Zygnema*, entstand die Frage, ob auch bei höheren Pflanzen das Protoplasma für Glycerin in plasmolytisch nachweisbarem Grade permeabel ist.

Zunächst untersuchte ich *Tradescantia discolor*, und zwar die Zellen der violetten Oberhaut der Blattunterseite. In Lösungen von 2,5—2,8 % Glycerin trat in mehreren Versuchen innerhalb einer Stunde in sämmtlichen Zellen Plasmolyse ein, welche aber in den nächsten Stunden wieder vollständig verschwand, ohne dass das Protoplasma einen erkennbaren Schaden genommen hatte, und namentlich ohne sichtliche Aenderung in Kern und Hautschicht. Genau so verhielten sich die blass violetten Zellen der unterseitigen Blattoberhaut von *Tradescantia zebrina*; in einer Lösung von 4,6 % waren sie in kurzer Zeit sämmtlich plasmolysirt, nach 24 Stunden hatten sich die Protoplaste aber wieder auf das normale Maass ausgedehnt. Die braunrothen Streifen auf den Blättern von *Vriesea splendens* verhielten sich in 3,9 % Glycerin ähnlich. Nach einer halben Stunde waren in dünnen Schnitten sämmtliche Zellen plasmolysirt, nach weiteren 2 Stunden war die Plasmolyse ausgeglichen. Die Markzellen ausgewachsener Internodien von *Coleus Verschaffelti* wurden von 3,3 % Glycerin in zwei Stunden plasmolysirt; nach einem Tag war die Erscheinung in den meisten, nach zwei Tagen in sämmtlichen Zellen verschwunden, ohne dass diese wesentlichen Schaden erlitten hatten.

Leichter und sicherer kann man das Verschwinden der Plasmolyse in normalen Zellen beobachten, wenn man die Schnitte zu-

nächst in plasmolysirende Rohrzuckerlösungen, und sobald sämmtliche Zellen plasmolysirt sind, in isotonische Glycerinlösungen bringt. Man umgeht dann den Nachtheil, dass das Glycerin vor der Plasmolyse in den Zellsaft eindringt, und das Eintreten dieses Zustandes somit beeinträchtigt. Die Ausdehnung der Protoplaste kann dann in schwächeren Lösungen als beim directen Einbringen in Glycerin beobachtet werden. Ich benutzte Lösungen von 10,3 und 12,3 % Rohrzucker, welche mit 2,8 und 3,3 % Glycerin isotonisch sind. Als Präparate benutzte ich Schnitte aus dem Mark des Stengels von *Coleus Verschaffelti*, aus der Epidermis und dem Blattparenchym von *Haemanthus albiflos* und aus Mark und Rinde von *Impatiens Sultana*. In den drei Rohrzuckerlösungen waren nahezu sämmtliche Protoplaste innerhalb einer Stunde zu Kugeln plasmolysirt. Jetzt wurden die Präparate in die entsprechenden Glycerinlösungen gebracht, und nach 24 Stunden war die Plasmolyse überall verschwunden. Jetzt mit 10 % Kalisalpeter behandelt contrahirten sich die Protoplaste wieder und zeigten sie, dass sie noch sämmtlich lebendig waren und während der Ausdehnung keinen Schaden genommen hatten.

In einer dritten Weise kann man den Durchgang des Glycerins durch normale Protoplaste, und zwar im nichtplasmolysirten Zustand nachweisen, wenn man die niedrigste zur Plasmolyse erforderliche Concentration des Glycerins und des Rohrzuckers für dasselbe Gewebe bestimmt. Ich fand dann diese beiden keineswegs isotonisch, sondern es war vom Glycerin stets eine hyperisotonische Lösung 1) erforderlich. Daraus folgt, dass Glycerin während der Versuche in den Zellsaft eindrang.

Es erhellt aus den mitgetheilten Versuchen, dass eine plasmolytisch-nachweisbare Permeabilität für Glycerin im Pflanzenreiche wenigstens sehr weit verbreitet ist.

Permeabilität und Impermeabilität des Protoplasma. Die Bestimmung der isotonischen Coëfficienten beruht auf dem Satz, dass normale Protoplaste für unschädliche Substanzen, wenn solche als plasmolytische Reagentien angewandt werden, nicht in merklicher Weise permeabel sind 2) Die erforderliche Impermeabilität ist aber bekanntlich keine absolute 3), denn für dieselben Stoffe, welche

1) Hyperisotonisch nennt Hamburger Lösungen höherer Concentrationen wie die isotonische; hypisotonisch diejenigen geringerer Concentration (l. c. 1887. S. 41).

2) *Opera II*, S. 428.

3) Ibid. S. 391 Note. Der Ausdruck „mikroskopisch-nachweisbar" in

das Protoplasma nicht in plasmolytisch-nachweisbarer Menge durchdringen, ist es doch gewöhnlich wohl in dem Grade durchlässig, dass es sie als Nährstoffe oder als Gifte aufnehmen kann, oder dass es gelingt, den Durchgang durch feine mikrochemische Reactionen nachzuweisen. Namentlich in letzterer Hinsicht ist in den letzten Jahren unsere Kenntniss von der Permeabilität bedeutend erweitert worden, und es scheint mir daher nicht ohne Interesse, die physiologisch oder mikrochemisch-nachweisbare Permeabilität an dieser Stelle mit dem Verhalten der Protoplaste bei plasmolytischen Versuchen zu vergleichen.

Schon vor siebzehn Jahren, bei meinen ersten Versuchen über die Permeabilität des Protoplasma habe ich die Erwartung ausgesprochen, dass diese Eigenschaft in weitaus den meisten Fällen eine sehr beschränkte sein würde [1]) und das Verhalten der lebenden Protoplaste gegenüber plasmolytischen Reagentien hat diese Erwartung seitdem im Allgemeinen bestätigt. Denn erst im letzten Jahr sind Fälle aufgefunden worden, wo die Permeabilität einen solchen Grad erreichte, dass sie auf dem gewöhnlichen plasmolytischen Wege nachweisbar war. Neben den oben angeführten Versuchen mit Glycerin beziehen sich diese vorwiegend auf die Permeabilität verschiedener Algen für leicht diffundirende Salze, wie Kalisalpeter und Chlornatrium. Janse fand, dass bei *Chaetomorpha* und *Spirogyra* eine genaue Ermittelung der plasmolytischen Grenzconcentration mit diesen Salzen nicht gelingt, dass die Grenze vielmehr zu hoch gefunden wird, weil merkliche Mengen der angewandten Substanz in den Zellsaft hinüber treten [2]). Unter günstigen Umständen verschwand sogar die in schwach hyperisotonischen Lösungen anfangs eingetretene Plasmolyse, ohne dass die Zellen irgend welchen Schaden genommen hatten; sie lebten nachher noch lange Zeit in den betreffenden Lösungen weiter.

Unsere Kenntniss von der Permeabilität des Protoplasma ist noch eine sehr beschränkte. Wie sich diese Eigenschaft bei der

---

dieser Note dürfte Missverständnissen ausgezetzt sein. Er bedeutet in dem dortigen Verbande nicht etwa „mikrochemisch" — sondern offenbar „auf plasmolytischem Wege nachweisbar".

1) Sur la perméabilité du protoplasme des betteraves rouges. *Opera I*, S. 93.

2) J. M. Janse, Verslag der onderzoekingen verricht in het zoölogisch Station te Napels, Februar 1887. S. 4 und Botan. Centralblatt. Bd. 32. Nr. 1. Jahrg. VIII. Nr. 40. 1887. S. 1. Man vergleiche auch A. Wieler, Plasmolytische Versuche mit unverletzten phanerogamen Pflanzen. Ber. d. deutsch. bot. Gesellschaft. Bd. V. S. 375.

Stoffaufnahme und Stoffwanderung verhält, ist bei Weitem noch nicht genügend aufgeklärt [1]. Famintzin's Versuche über die Cultur von Algen in Lösungen anorganischer Salze haben gelehrt, dass die Permeabilität auch für die eigentlichen Nährstoffe keineswegs eine unbegrenzte ist, da diese Gewächse zwar ein langsames oder stufenweises Steigen der Concentration ertragen, beim plötzlichen Eintauchen in wenigprocentige Lösungen aber regelmässig zu Grunde gehen [2]. Durch eine langsame Zunahme der Concentration konnte er allmählich ganz bedeutende Mengen von Salzen in den Zellsaft überführen, und die Zellen somit an stärkere Lösungen gewöhnen. Nach seinem Vorgange habe ich mit *Spirogyra nitida* folgenden Versuch angestellt. In eine grosse flache Schale wurden 300 CC einer 0,5 % enthaltenden Salpeterlösung und einige kleine Rasen von *Spirogyra* gebracht. Die Schale stand bei 10° C. offen und an einem gut beleuchteten Ort; die Fäden erhielten sich durch mehrere Tage völlig turgescent und frisch. Im Laufe von 18 Tagen dunstete nun die Flüssigkeit so weit ein, dass ihre Concentration 4,6 % betrug; die *Spirogyren* waren jetzt in allen Zellen schwach plasmolysirt; die Protoplaste aber sonst noch ganz normal und lebendig, nur wenige Fäden waren während des Versuchs gestorben. Da eine 4,6 % Lösung beim plötzlichen Eintauchen die Zellen dieser Cultur stark plasmolysirte und bald zu Grunde richtete, müssen während des langen Aufenthaltes in der Lösung bedeutende Salzmengen in die Zellen eingedrungen sein.

Die Fälle, in denen sich ein Uebergang gelöster Stoffe in die lebende Zelle direct mikrochemisch nachweisen liess, waren vor wenigen Jahren sehr wenig zahlreich. Den ersten derartigen Fall fand ich im Wurzelkörper der rothen Rüben, in deren Zellen durch schwache Lösungen von Ammoniak der rothe Farbstoff in eine braune Verbindung verwandelt werden kann, ohne dass die Protoplaste dadurch geschädigt werden [3]. Pfeffer hat diese Versuche auf andere Pflanzen ausgedehnt, und auch für verdünntes Kali und Kalicarbonat, sowie für verdünnte Säuren durch Farben-

---

1) *Opera II,* S. 391. Note.

2) A. Famintzin, Die anorganischen Salze als Hülfsmittel zum Studium niederer Organismen. Mélanges biologiques. T. VIII. S. 226. 1871. Die oben citirten Versuche von Janse bestätigen Famintzin's Ergebnisse.

3) *Opera I,* S. 92.

änderung des Zellsaftes einen Durchtritt durch das lebende Protoplasma nachgewiesen 1).

Erst vor zwei Jahren wurde durch die überraschende Entdeckung des letztgenannten Forschers, dass zahlreiche Anilinfarben ohne Schädigung von lebensthätigen Zellen aufgenommen werden, die allgemeine Aufmerksamkeit auf diese Erscheinungen gelenkt 2). In der letzten Zeit ist auch das Reagens von Molisch, Diphenylamin-Schwefelsäure, von Janse und von Wieler für das Studium der Permeabilität der Protoplaste verwendet worden 3). Beide Forscher fanden, dass lebende Zellen aus Salpeterlösungen von mit dem Zellsaft nahezu isotonischer Concentration leicht so viel Salz aufnehmen, dass dieses, nachdem es durch längeren Aufenthalt in Wasser aus den Zellhäuten vollständig entfernt ist, im Zellinhalt durch das genannte Reagens nachgewiesen werden kann. Ich habe diese von Janse mit *Tradescantia* 4) und *Spirogyra*, von Wieler mit verschiedenen Keimpflanzen 5) angestellten Versuche wiederholt und bestätigt gefunden. Sogar aus sehr verdünnten, völlig unschädlichen Lösungen (0,1 % KNO^3) nehmen *Spirogyra*, sowie die violetten Oberhautzellen älterer Blätter von *Tradescantia discolor* innerhalb 24 Stunden soviel Salpeter auf, dass man dieses Salz in ihnen nach ein- bis mehrtägigem Aufenthalt in reinem Wasser noch leicht nachweisen kann. Namentlich für *Tradescantia discolor* ist diese Thatsache wichtig, da dieselben Zellen für dasselbe Salz bekanntlich plasmolytisch-impermeabel, d. h. nicht in solchem Grade durchlässig sind, dass ihre Permeabilität sich bei genauen quantitativen plasmolytischen Versuchen erkennen lässt 6).

Aus den angeführten Thatsachen ergiebt sich wenigstens soviel mit Gewissheit, dass die Permeabilität des Protoplasma bei verschiedenen Pflanzen, bei verschiedenartigen Zellen derselben Pflanze, und wahrscheinlich auch in derselben Zelle je nach dem Alter und je nach verschiedenen äusseren Einflüssen einen ver-

---

1) Pfeffer, Osmot. Untersuchungen. 1877. S. 140 bis 141.

2) Pfeffer, Arbeiten d. bot. Instituts in Tübingen. Bd. 2. Heft 2. S. 179.

3) Hans Molisch, Ber. d. deutsch. bot. Gesellschaft. 1883. Bd. 1. S. 150 und Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wiss. Wien. I. Abth. Mai. 1887. S. 221.

4) Vortrag im Niederländischen Naturforscher-Congress zu Amsterdam. 1. Oct. 1887. Verslagen en Mededeelingen der k. Akad. v. Wetensch. Amsterdam. 3. Reihe. Bd. IV. 1888. S. 332.

5) A. Wieler l. c.

6) *Opera II*, S. 433 bis 440.

schiedenen Grad erreichen kann. Im einen Falle nur durch die feinsten mikrochemischen Reactionen nachweisbar, ist sie in anderen Fällen auf plasmolytischem Wege quantitativ messbar. Am geringsten erscheint sie in jenen längst ausgewachsenen und ruhenden Geweben, welche ich als Indicatoren bei der Ermittelung der isotonischen Coëfficienten auf plasmolytischem Wege ausgewählt habe. Meine Indicatorpflanzen sind *Tradescantia discolor, Curcuma rubricaulis* und *Begonia manicata.* Aber auch bei diesen ist die Impermeabilität des Protoplasma nicht im gleichen Grade ausgebildet. Nur bei der letztgenannten Art war sie so bedeutend, dass sie die Ermittelung der isotonischen Coëfficienten für freie organische Säuren zuliess.

Auch gegenüber Salpeter und Glycerin hat sich die grössere Leistungsfähigkeit der *Begonia manicata* bewährt. Beide Substanzen gehen, wie wir gesehen haben, durch das Protoplasma der betreffenden Zellen von *Tradescantia discolor* in kurzen Zeiten durch, erstere in mikrochemisch, letztere sogar in plasmolytisch-nachweisbarer Menge. Ich liess nun Schnitte aus der rothen Oberhaut der Blattschuppen von *Begonia manicata* während eines Tages in Salpeterlösungen von 0,1, 0,5 und 1.0 % verweilen und brachte sie dann in reines Wasser. Sämmtliche Zellen blieben hier am Leben, aber am nächsten Tag trat mit Diphenylamin-Schwefelsäure nur eine äusserst schwache, bei manchen Schnitten kaum sichere Blaufärbung ein. Die aus den drei verschiedenen Lösungen stammenden Präparate verhielten sich dabei aber in derselben Weise. Es zeigt dieser Versuch, dass die betreffenden Zellen für Salpeter bei Weitem weniger permeabel sind, als die früher besprochene Oberhaut von *Tradescantia discolor.* Um eine etwaige Permeabilität für Glycerin zu constatiren, benutzte ich die plasmolytische Methode. Nachdem bestimmt worden war, welche Concentration zur Ablösung des Protoplasma gerade erforderlich war, brachte ich Schnitte in schwach hyperisotonische Lösungen. Ich benutzte solche in sechs verschiedenen Abstufungen von 0,26 bis 0,40 Molecül (2,4—3,68 %). In allen war nach etwa einer Stunde Plasmolyse eingetreten. In keinem Falle aber wurde diese nachher rückgängig.

Somit sind diese Zellen für Glycerin plasmolytisch-impermeabel, und kann die *Begonia manicata* also für diese Substanz ebenso wie für freie organische Säuren als Indicatorpflanze benutzt werden. Dass aber auch diese Impermeabilität keine absolute ist, ergiebt sich daraus, dass bei längerer Versuchsdauer (z. B. 24 Stunden)

die meisten Zellen sterben, dass das Glycerin also in die Protoplaste in hinreichender Menge eindringt, um hier als Gift zu wirken.

Bestimmung des isotonischen Coëfficienten für Glycerin. Nachdem im Vorhergehenden gezeigt worden ist, dass die rothe Oberhaut der Blattstielschuppen von *Begonia manicata* ein zuverlässliches Indicatorgewebe darstellt, wollen wir jetzt mit ihnen die Bestimmung ausführen. Ich habe diese in genau derselben Weise, wie früher, durchgeführt 1).

Aus der oberseitigen Oberhaut der obersten Ringschuppe des Blattstieles lassen sich leicht zwölf grosse mikroskopische Präparate herstellen, deren jedes mehrere Hunderte von Zellen umfasst. Die Grenzconcentration, bei der gerade noch Plasmolyse eintritt, wurde für Salpeter und Glycerin im Voraus annähernd bestimmt. Sie liegt für das Salz zwischen 0,12 und 0,17 Mol. und für Glycerin zwischen 0,20 und 0,30 Mol. Es werden jetzt je sechs Lösungen hergestellt, deren Concentration beim Salpeter um 0,01, beim Glycerin um 0,02 Mol. von einander verschieden sind. In je 10 CC dieser Lösungen kommen die zwölf Präparate aus derselben Blattschuppe. Nach 2 bis 5 Stunden kann man erwarten, dass ein Gleichgewichtszustand eingetreten ist; jetzt werden die Präparate also unter dem Mikroskop durchmustert. Im ersten Versuch wurde nach vier Stunden, in den beiden folgenden nach neun Stunden die Prüfung wiederholt und constatirt, dass die gesuchte Grenze sich nicht verschoben hatte.

Ich habe sechs Bestimmungen ausgeführt, jede mit einem anderen Blattstiele, deren jeder womöglich einem besonderen Exemplar entnommen war. Für den sechsten Versuch diente die Varietät *B. manicata variegata.* Auch die Lösungen wurden jeden Tag für die Versuche besonders hergestellt. Die Versuchsdauer war für den ersten Versuch zwei Stunden, für II und III 3, für IV und V 4, und für VI 4½ Stunden.

In der folgenden Tabelle führe ich nur die Beobachtungen in denjenigen Concentrationen an, welche die Grenze am nächsten umschliessen. Die Concentrationen, in Grammmolekülen pro Liter ausgedrückt, stehen am Kopfe der einzelnen Spalten. Sie enthielten also im Liter so vielmal 92 gr Glycerin, als die angegebenen Zahlen ausweisen 2). Es bedeutet I. C. die mit dem normalen Zellsaft

1) *Opera II*, S. 158—172.

2) Die Lösungen wurden hergestellt aus reinstem Glycerin von 1,249 spec. Gew. = 95 %. Vergl. Strohmer in Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie XXIV. 1885. S. 107.

isotonische Concentration, das Verhältniss dieser Concentration für Salpeter und Glycerin findet sich in der letzten Spalte. Dieses Verhältniss, multiplicirt mit dem isotonischen Coëfficienten des Salpeters = 3, giebt den Coëfficienten für Glycerin.

Es bedeutet ferner: *n*, keine Zelle plasmolysirt; *hp*, etwa die Hälfte der Zellen plasmolysirt; *p*, alle Zellen plasmolysirt. Im Uebrigen wolle man die früheren Erörterungen über die Zusammenstellung und Bedeutung solcher Tabellen vergleichen 1).

	Glycerin					Kalisalpeter					
	0,20	0,22	0.24	0,26	I. C.	0,13	0,14	0,15	0,16	I. C.	Verhältniss
I	n	hp	p	p	0,22	n	p	p		0,135	0,614
II		n	p	p	0,23	n	hp	p		0,14	0,608
III		n	n	p	0,25	n	hp	p		0,14	0,560
IV		n	hp	p	0,24	n	hp	p		0,14	0,583
V		n	hp	p	0,24		n	hp	p	0,15	0,625
VI		n	n	p	0,25	n	hp	p		0,14	0,560

Im Mittel ist demnach für Glycerin:
das Verhältniss zwischen den isotonischen Concentrationen 0,592
der isotonische Coëfficient . . . . 1,78.

Wir wollen jetzt dieses Ergebniss mit den Coëfficienten der übrigen untersuchten organischen Körper sowie mit deren molecularen Gefrierpunkts-Erniedrigungen vergleichen 2). Die ersteren weichen nur unbedeutend von der Zahl 2, die letzteren nur unwesentlich von der Zahl 18,5 ab. Die letzteren entnehme ich aus der ausführlichen Tabelle Raoult's, welche dieses Gesetz für etwa dreissig verschiedene, theils N-haltige, theils N-freie Verbindungen darthut 3).

	Isot. Coëff.	Gefrierpunkts-erniedrigung.
Glycerin	1,78	17,1
Rohrzucker	1,88	18,5
Invertzucker	1,88	19,3
Aepfelsäure	1,98	18,7
Citronensäure	2,02	19,3
Weinsäure	2,02	19,5

Es kann somit keinem Zweifel ausgesetzt sein, dass das Glycerin

1) *Opera II*, S. 137.
2) *Opera II*, S. 214.
3) F. M. Raoult. Annales de Chimie et de Physique. 5. Serie. T. XXVIII. 1883. S. 5 und 11 des Separatabdruckes.

den von mir aufgestellten Gesetzen der isotonischen Coëfficienten folgt.

Die Messung der Permeabilität der Protoplaste für Glycerin. In meinen plasmolytischen Studien über die Wand der Vacuole habe ich an mehreren Stellen darauf hingewiesen, wie die Erscheinungen der Plasmolyse uns ein Mittel geben, um uns über die Grösse der Permeabilität eine Vorstellung zu machen [1]). Es handelte sich damals um durch geringe Dosen von Säuren und Giften permeabel gemachte Protoplaste. Es lassen sich dieselben Principien aber selbstverständlich auch auf normale Vorgänge anwenden, und sie gestatten uns somit die Permeabilität verschiedener Protoplaste für Glycerin wenigstens annähernd zu messen.

Da die Permeabilität im plasmolytischen Zustande allem Anschein nach geringer ist als vor der Plasmolyse, so empfiehlt es sich, die Bestimmung im möglichst normalen Zustand vorzunehmen. Es lässt sich dieses genau in derselben Weise ausführen, in der die in der daneben stehenden Tabelle mitgetheilten Versuche genommen sind. Denn es ist klar, dass, wenn während solcher Versuche Glycerin durch die Protoplaste hindurch in den Zellsaft übertritt, die isotonische Concentration zu hoch gefunden werden muss. Und zwar genau um soviel, als die im Zellsaft erreichte Concentration des Glycerins beträgt. Berechnet man also aus der isotonischen Concentration des Salpeters den analogen Werth für Glycerin, so wird offenbar die Differenz des gefundenen und des berechneten Werthes die Concentration anweisen, zu welcher sich das Glycerin während des Versuchs im Zellsaft angehäuft hat.

Die folgenden Zahlen wurden in der angegebenen Weise gefunden. Ich theile sie nur als Beispiele für die Methode, nicht etwa als Constanten für die betreffenden Zellen mit.

Die violette Oberhaut des Mittelnerven der Blattunterseite von *Tradescantia discolor* ergab bei einstündiger Versuchsdauer:

Isoton. Concentration d. Salpeters	0,14 Mol.
„ „ „ Glycerins	0,27 „
Dieselbe berechnet [2])	0,24 „

Bei weitere Fortsetzung des Versuches blieb die Grenze in Salpeter dieselbe, während die in 0,28 Mol. Glycerin entstandene Plasmolyse nach drei Stunden verschwunden war.

---

1) *Opera II*, z. B. S. 399 und S. 432.

2) Mittels des S. 495 angegebenen isotonischen Coëfficienten.

In der ersten Stunde war also aus 0,27 Mol. Glycerin soviel in den Zellsaft eingedrungen, dass dieser etwa 0,23 Mol. enthielt.

Die Zellen von *Spirogyra nitida* lassen auch den Salpeter in merklicher Weise durchgehen, nicht aber, wenigstens in meinen Culturen, den Rohrzucker. Ich benutzte somit diesen als Grundlage zur Vergleichung. Bei einer Versuchsdauer von ½ Stunde fand ich die

Isoton. Concentration d. Rohrzuckers	0,30	Mol.
,, ,, ,, Glycerins	0,35	,,
Dieselbe berechnet [1])	0,32	,,
Differenz	0,03	,,

In den Rohrzuckerlösungen hat sich die Grenze innerhalb weiterer 24 Stunden nicht verschoben, während sich die Plasmolyse in 0,36 bis 0.40 Mol. Glycerin ausgeglichen hatte.

In einer halben Stunde war also aus 0,35 Mol. Glycerin soviel in den Zellsaft übergetreten, dass dieser etwa 0,03 Mol. enthielt.

Wenn es gelingt, für verschiedene Pflanzen vergleichbare Versuchsbedingungen herzustellen, so wird sich offenbar die Permeabilität auf plasmolytischem Wege vergleichend behandeln lassen.

Amsterdam, 19. Januar 1888.

(*Botanische Zeitung 1888, S. 229*).

1) Mittels des S. 495 angegebenen isotonischen Coëfficienten.

UEBER DIE ANWENDUNG DER PLASMOLYTISCHEN METHODE AUF DIE BESTIMMUNG DES MOLEKULARGEWICHTS CHEMISCHER SUBSTANZEN.

Die relative Grösse der osmotischen Spannkraft chemischer Verbindungen in verdünnten wässrigen Lösungen wird durch die Zahlen angegeben, für welche ich den Namen der isotonischen Coëfficienten gewählt habe. Diese Werthe sind für sämmtliche Glieder einer und derselben Gruppe nahezu dieselben 1). Und da diese Gruppen äusserst natürliche sind, so kann man für sämmtliche zu ihnen gehörige aber bis jetzt darauf noch nicht geprüfte Körper den isotonischen Coëfficienten im Voraus angeben.

Ist nun das Molekulargewicht des betreffenden Körpers bekannt, so kann man aus diesem und dem Coëfficienten die Concentrationen berechnen, welche dieselbe osmotische Spannkraft besitzen, als irgend welche verdünnte Lösung einer anderen gegebenen Substanz. In dieser Weise finden die isotonischen Coëfficienten bei plasmolytischen Versuchen regelmässig Anwendung.

Ist aber das Molekulargewicht einer fraglichen Verbindung noch nicht bekannt, so wird man offenbar umgekehrt, aus ihrem isotonischen Coëfficienten und dem Resultate einer experimentellen Ermittelung ihres isotonischen Werthes die Grösse dieses Molekulargewichts, wenigstens annähernd ableiten können. Die Ermittelung des isotonischen Werthes ist aber für alle Körper, deren Lösungen in Pflanzenzellen die Erscheinung der normalen Plasmolyse hervorrufen können, eine leichte und einfache Operation, welche in genau derselben Weise, wie die Bestimmung der isotonischen Coëfficienten, ausgeführt wird.

In ähnlicher Weise wie für Gase hat die Berechnung des Molekulargewichts auf physikalischem Wege in allen jenen Fällen Werth, in denen das Studium der chemischen Eigenschaften eines Körpers die Wahl offen lässt zwischen mehreren, aus derselben

---

1) *Opera II*, S. 216.

elementaren Zusammensetzung abgeleiteten Formeln, welche verschiedenen Molekulargrössen entsprechen. Und wo es sich um wässrige Lösungen von Substanzen handelt, welche als plasmolytische Reagentien benutzt werden können, empfiehlt sich zu diesem Zwecke also die plasmolytische Methode.

Ihre Resultate erreichen denselben Grad von Genauigkeit, wie die zur Ermittelung des Molekulargewichts vorgeschlagenen rein chemischen oder physikalischen Methoden, da die Endreaction, das Eintreten des ersten Anfanges der Plasmolyse, sich bei den von mir gewählten Indicatorpflanzen stets mit der gewünschten Schärfe erkennen lässt.

Meine Methode weist nicht die absolute Grösse der osmotischen Spannung der untersuchten Lösung an, sondern nur das Verhältniss zu dem analogen Werth einer anderen Verbindung. Denn man hat für zwei Substanzen diejenige Concentration zu ermitteln, welche grade den Anfang der Plasmolyse hervorruft. Diese sind unter sich isotonisch, d. h. sie haben dieselbe osmotische Spannung. Hat man aber beide Substanzen aus derselben Gruppe gewählt, d. h. besitzen beide denselben isotonischen Coëfficienten, so verhalten sich die Concentrationen der isotonischen Lösungen offenbar wie die Molekulargewichte. Ist dieser Werth für die eine der beiden Substanzen bekannt, so kann man ihn also für die anderen berechnen. Trotzdem sie also nur relative Zahlen giebt, ist die Methode aber, wie man sieht, eine äusserst einfache und völlig sichere.

Bei der hier vorgeschlagenen Anwendung handelt es sich aber stets um Körper deren isotonischer Werth noch nicht experimentell bestimmt wurde, für welche also die Gültigkeit der betreffenden Gesetze nicht direct bewiesen worden ist. Und auf die Annahme, dass diese Gesetze auch für sie gelten, beruht offenbar die Zuverlässigkeit des Resultates.

Es ist somit erforderlich, die Berechtigung dieser Annahme ausführlich zu begründen. Sie beruht in erster Linie auf die bedeutende Anzahl der untersuchten Substanzen, und auf die Erwägung, dass Ausnahmen von den betreffenden Gesetzen bis jetzt nicht aufgefunden worden sind (l. c. S. 214). Zweitens aber auf alle jene Fälle, in denen der isotonische Coëfficient im Voraus aus den Gesetzen abgeleitet und nachher durch das Experiment bestätigt wurde (l. c. S. 217). Zu diesen Beispielen ist jetzt auch das Glycerin zu stellen [1]).

---

1 *Opera II*, S. 484.

Die Zuverlässigkeit der Gesetze der isotonischen Coëfficienten geht aber besonders klar hervor aus der Bestätigung, welche diese nach einer ganz andern aber gleichfalls physiologischen Methode erfahren haben. In seinen Untersuchungen über den Einfluss chemischer Substanzen auf die Blutkörperchen, und über die Beziehung dieses Einflusses zu den Molekulargewichten [1]) hat Hamburger den Nachweis geliefert, dass die Blutkörperchen in Lösungen neutraler, unschädlicher Verbindungen ähnliche Erscheinungen aufweisen, wie die Pflanzenzellen, und dass sie in diesen Lösungen nur dann unverändert erhalten bleiben, wenn deren Concentration mit der osmotischen Spannung des Blutes isotonisch ist. Dabei verhalten sich aber verschiedene Verbindungen quantitativ in derselben Weise, wie gegenüber Pflanzenzellen, und es sind somit die Gesetze der isotonischen Coëfficienten für diese letzteren dieselben wie für die Blutkörperchen.

In meiner „Methode zur Analyse der Turgorkraft" habe ich hervorgehoben, dass die Verminderung der Dampfspannung des Wassers durch darin gelöste Stoffe, die Erniedrigung des Dichtigkeitsmaximums von Lösungen und die Erniedrigung der Temperatur des Gefrierens Erscheinungen sind, welche als Folgen derselben osmotischen Kräfte zu betrachten sind, wie die Plasmolyse, und dass eine Vergleichung der isotonischen Coëfficienten mit den Resultaten der Erforschung jener Vorgänge im Allgemeinen zu einer Bestätigung der betreffenden Gesetze führt (l. c., S. 223).

Diese Bestätigung ist nun durch die seitdem veröffentlichten Resultate Raoult's über die molekulare Gefrierpunktserniedrigung bedeutend erweitert worden, und etwaige Zweifel über die Anwendbarkeit meiner Gesetze auf andere als die bisher untersuchten Stoffe werden durch eine Vergleichung der von Raoult gewonnenen Zahlen völlig beseitigt. Auch hat dieser Forscher auf die Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung eine Methode gegründet, welche die Ermittelung des Molekulargewichts für eine äusserst grosse Reihe von Körpern gestattet und welche ohne Zweifel in den meisten Fällen den Vorzug vor der plasmolytischen Methode verdient [2]).

Die Verminderung der Dampfspannung des Wassers durch darin

---

1) H. J. Hamburger in de Onderzoekingen van het physiologisch Laboratorium te Utrecht, 3de Reeks, IX, blz. 26, 1884.

2) F. M. Raoult, Méthode universelle pour la détermination des poids moléculaires; Annales de chimie et de physique, 6de Serie, T. VIII, p. 29, Juillet 1886.

gelöste Substanzen ist im vergangenen Jahre von G. Tamman [1]) studirt worden, und auch hier verhalten sich die verschiedenen Substanzen genau so wie bei der Plasmolyse und bei der Erniedrigung des Gefrierpunktes.

Schliesslich finden alle diese Einzeluntersuchungen ihre theoretische Grundlage und ihr gemeinschaftliches Band in den Untersuchungen von van 't Hoff über die Grundgesetze der osmotischen Spannung verdünnter Lösungen, und in dem von diesem Forscher gelieferten Nachweis, dass die Gesetze von Boyle, Gay-Lussac und Avogadro nicht auf Gase beschränkt sind, sondern auch die sämmtlichen Spannungserscheinungen in verdünnten Lösungen beherrschen [2]).

Es kann somit die Berechtigung der hier vorgeschlagenen Anwendung meiner Methode keinem begründeten Zweifel mehr ausgesetzt sein.

Das Molekulargewicht der Raffinose.

Die im Vorhergehenden betonte Leistungsfähigkeit der plasmolytischen Methode wollen wir jetzt durch ein Beispiel näher begründen. Ich wähle dazu die Raffinose, und werde zunächst die Gründe auseinandersetzen, welche eine Bestimmung des Molekulargewichts dieses Körpers erwünscht machen.

Die Raffinose ist eine Zuckerart, welche im Jahre 1876 von Loiseau entdeckt wurde in einer kristallinischen Kruste, welche sich in der Raffinerie von Sommier und Co. in Paris allmählig aus der zuckerhaltigen Mutterlauge abgesetzt hatte [3]). Sie unterscheidet sich von anderen Zuckerarten durch ihren nur wenig süssen Geschmack und durch ihr Vermögen, das polarisirte Licht weit stärker zu drehen als der Rohrzucker.

Seitdem wurde die Raffinose erkannt als die Ursache einer bis dahin häufig beobachteten, aber noch nicht völlig aufgeklärten Erscheinung. Die Melassen der Rübenzuckerindustrie, und namentlich die durch das Strontianverfahren gewonnenen, wiesen häufig im Polarisations-apparate einen grösseren Gehalt an Zucker auf als 100 pCt. Sie mussten also einen unbekannten, das polarisirte Licht

---

1) Gustav Tamman, Die Dampftensionen der Lösungen, in Mémoires de l'Acad. de Sc. de St. Pétersbourg, 7de Serie, T. XXXV, N°. 9, 1887, S. 171.

2) J. H. van 't Hoff, Lois de l'équilibre chimique dans l'état dilué, gazeux ou dissous. — Kon. Svensk. Vetensk. Akademiens Handlinger Bd. 21, N°. 17, 1886 und Archives Néerl. T. XX, p. 239.

3) Comptes rendus 1876, II, Tom. 32, p. 1058.

stärker drehenden Bestandtheil enthalten. Dieser lange Zeit vorläufig als Plus-Zucker bezeichnete Stoff stellte sich nun, wenigstens der Hauptsache nach, als Raffinose heraus, und es gelang Scheibler ein einfaches Verfahren anzugeben, um die Raffinose aus diesen Melassen abzuscheiden, und in reiner kristallisirter Form in den Handel zu bringen [1]).

Die Raffinose entsteht nicht etwa während des Fabriksprocesses; sie kommt bereits in den Rüben selbst vor, und zwar in bedeutenderer Menge, als man nach dem Gehalt der Melassen annehmen würde. Sie wird also bei der Zuckergewinnung theilweise zersetzt. Ausser in Rüben wurde sie von Richardson und Crampton im Weizen und von Sullivan in Gerste aufgefunden. Sie wird demnach voraussichtlich im Pflanzenreich wohl eine weite Verbreitung haben. Dafür spricht auch der Umstand, dass neuere Untersuchungen ihre Identität mit den aus anderen pflanzlichen Produkten bereiteten Zuckerarten *Melitose* und *Gossypose* nachgewiesen haben.

Die Melitose wurde von Johnston aus der Australischen *Eucalypthus*-manna gewonnen und von Berthelot eingehend studirt [2]). Ihre Identität mit der Raffinose wurde von Tollens und Rischbiet entdeckt und ausführlich nachgewiesen [3]), welche Autoren auch, wie wir bald sehen werden, die von Berthelot aufgestellte Molekularformel übernahmen.

Auf die Identität der von Ritthausen und Böhm aus Baumwollensamenkuchen gewonnenen *Gossypose* mit der Raffinose hatte Tollens bereits früher hingewiesen, während Scheibler bald darauf den endgültigen Nachweis dafür brachte [4]).

Die Raffinose muss somit eine im Pflanzenreich ziemlich weit verbreitete Zuckerart sein.

Während ich für die chemischen Eigenschaften dieses Körpers auf die betreffende Literatur, und namentlich auf die ausführliche und gründliche Zusammenstellung in Stammer's „*Jahresbericht über die Untersuchungen und Fortschritte im Gesammtgebiete der Zuckerfabrikation*,“ (Band XXV, 1885, 162—202), verweise werde ich jetzt versuchen eine Uebersicht desjenigen zu geben, was zu den verschiedenen Ansichten über die Molekularformel unserer Zuckerart Veranlassung gegeben hat.

---

1) C. Scheibler, Berichte d. d. chem. Gesellsch., 18 S. 1409.

2) Johnston, Philos. Magazine 1843, S. 14; Berthelot, Ann. Chim, Phys., (3) T. 46 p. 66.

3) Tollens und Rischbiet, Zeitschr. f. Zuckerindustrie, T. 35, p. 1030.

4) Scheibler, Ber. d. d. chem. Gesellsch. Bd. 18. S. 1779.

Berthelot hatte für seine Melitose die Formel $C_{12}H_{22}O_{11}+3H_2O$ aufgestellt, und zu derselben Zusammensetzung war Ritthausen für die Gossypose gelangt. Dagegen hatte Loiseau, welcher der Raffinose seit 1876 eine Reihe gründlicher Arbeiten im *Journal des fabricants de sucre* gewidmet hat, für diesen Körper die Formel $C_{18}H_{32}O_{16}+5H_2O$ angenommen. Beide Formeln entsprechen demselben Resultate der Elementar-analyse, da beide $= n\ (C_6H_{14}O_7)$ sind, indem n von Berthelot und Ritthausen $= 2$, von Loiseau $= 3$ gestellt wurde. Die Entscheidung hierüber war in beiden Fällen durch die Bestimmung des Gehalts an Kristallwasser gewonnen, welcher Gehalt für die erste Formel 13,64 pCt., für die zweite aber 15,15 pCt. beträgt.

Man sollte nun glauben, dass die Frage nach der Kristallwassermenge sich leicht entscheiden liesse. Man stösst hierbei aber auf unerwartete Schwierigkeiten. Erwärmt man zu rasch, so schmilzt die Substanz in ihrem Kristallwasser, und eine völlige Austreibung dieses ist nicht mehr zu erreichen. Weicht man dieser Schwierigkeit durch sehr langsames Erwärmen aus, so erhält man bei 100° C allerdings einen Wasserverlust von etwa 13—14 pCt., aber dieser wird nicht constant. Erhitzt man bis zu 120—130° C., so fängt die Raffinose an sich zu zersetzen und zu caramelisiren, bevor ein Gewichtsverlust von 15,15 pCt. erreicht worden ist. Dabei entsteht Glucose, wie man mittelst Fehling'scher Lösung nachweisen kann, denn die Raffinose reducirt die Kupferlösung nicht.

Scheibler hat eine Methode gefunden, um den Kristallwassergehalt ohne jegliche Zersetzung genau zu bestimmen. Er lässt die fein-kristallinische Substanz im Vacuum über Schwefelsäure etwa 14 Tage vortrocknen, und setzt dann die Operation im Wasserbade bei 100° C fort, bis ein völlig constantes Gewicht eingetreten ist. Der Verlust beträgt dann genau 15,15 pCt., und Scheibler betrachtete die Frage damit als zu Gunsten Loiseau's entschieden 1).

Ihm gegenüber vertheidigten Tollens und Rischbiet die Formel Berthelot's 2). Sie behaupten, „das man je nach der Art des Trocknens zu recht verschiedenen Formeln gelangen kann", dass mitunter sogar ein Verlust von mehr als 15,15 pCt. gefunden sei. Sie versuchten somit eine Bestimmung auf rein chemischen Wege, und wählten dazu die Darstellung des Natriumderivats. Dieses hatte die Zusammensetzung $C_{12}H_{21}NaO_{11}$ (= 6.32 pCt. Na), oder

1) l. c. S. 181—191.
2) Zeitsch. f. Zuckerindustrie, T. 35, S. 1030.

$C_{12}H_{22}O_{11}NaOH$ (6.02 pCt. Na), und entschied also für die Formel $C_{12}H_{22}O_{11} + 3H_2O$.

Als die genannten Verfasser ihre Untersuchungen über die chemischen Eigenschaften der Raffinose fortsetzten, gelangten sie aber allmählig zu der Ansicht, dass die Moleküle dieser Verbindung wahrscheinlich grösser seien, als dieser Formel entsprechen würde, ja sogar grösser als von Loiseau und Scheibler angenommen wurde. Manches schien darauf hin zu deuten, dass die Raffinose sich den höher in der Reihe stehenden Stoffen, wie Amylodextrin und Inulin nähert, da sie sich in vielen Hinsichten diesen ähnlich verhält. Namentlich das Verhalten gegenüber Salpetersäure führte zu diesem Schlusse, denn es entstehen dabei 22—23 pCt. Schleimsäure. Dieses ist aus dem Formel $C_{12}H_{22}O_{11} + 3H_2O$ nicht zu erklären, wohl aber aus $C_{18}H_{32}O_{16} + 5H_2O$ oder deren Polymeren, wenn man annimmt, dass darin eine Galactose-gruppe $C_6H_{12}O_6$ vorhanden ist, oder doch durch die Einwirkung der Saüre daraus entstehen kann.

Um nun sowohl dieser letzteren Reaction, als dem Natriumderivate und endlich auch dem Kristallwassergehalt von 15.15 pCt. zu genügen, schlagen die beiden genannten Forscher vor, die Formel Loiseau's zu verdoppeln und das Molekül der Raffinose als der Formel $C_{36}H_{64}O_{32} + 10H_2O$ entsprechend zu betrachten.

In einer späteren ausführlicheren im Jahre 1886 erschienenen Arbeit halten sie diese Meinung aufrecht, indem sie sagen „Die Formel $C_{36}H_{64}O_{32} + 10H_2O$ ist diejenige, welche allen bekannten Thatsachen genügt" [1]).

Ueber die Molekularformel der Raffinose liegen also derzeit die drei folgenden Ansichten vor [2]):

		Kristallwassergehalt.	Molekulargewicht.	
1.	$C_{12}H_{22}O_{11} + 3H_2O$	13.64 pCt.	396	Berthelot und Ritthausen.
2.	$C_{18}H_{32}O_{16} + 5H_2O$	15.15 „	594	Loiseau und Scheibler.
3.	$C_{36}H_{64}O_{32} + 10H_2O$	15.15 „	1188	Tollens und Rischbiet.

Diese Formeln entsprechen derselben elementaren Zusammensetzung der kristallisirten Substanz, tragen aber verschiedenen Bestimmungen des Kristallwassergehaltes und verschiedenen chemischen Reactionen Rechnung.

---

1) Zeitschr. f. Rübenzuckerindustrie, T. 36, S. 214.

2) Man vergleiche auch die Uebersicht von Lippmann über diesen Streit in N°. 39 der Deutschen Zuckerindustrie (1885).

Bestimmung des Molekulargewichts der Raffinose nach der plasmolytischen Methode.

Um zu einer Entscheidung über die schwebende Frage zu gelangen, wollen wir jetzt den Satz anwenden, *dass organische Körper in verdünnten Lösungen bei derselben molekularen Concentration annähernd dieselbe osmotische Spannung besitzen.* Dieses Gesetz ist ein Theil meines ersten Gesetzes für die isotonischen Coëfficiënten [1]), und zwar derjenige Theil, welcher sich auf die erste der dort unterschiedenen Gruppen, diejenige der organischen metallfreien Verbindungen bezieht.

Wir haben also die osmotische Spannung verdünnter Lösungen von Raffinose zu vergleichen mit dem analogen Werthe für irgend eine andere organische Substanz, und wählen dazu aus leicht ersichtlichen Gründen den *Rohrzucker*, als einen genau bekannten, und mit der Raffinose am nächsten verwandten, also am besten vergleichbaren Stoff.

Wir haben also zu erforschen, bei welchen Concentrationen die Lösungen beider Substanzen denselben isotonischen Werth, d. h. dieselbe osmotische Spannung besitzen, denn solche Lösungen werden pro Liter annähernd dieselbe Anzahl von Molekülen enthalten. Es reicht hin, für eine Concentration des Rohrzuckers die damit isotonische Concentration der Raffinose zu ermitteln.

Als Indicator wählen wir die Erscheinung der Plasmolyse. In Lösungen, welche geringere Anziehung für Wasser haben als der Zellsaft der betreffenden Zellen, wird sich der den Saft umschliessende Protoplast nicht von der Zellhaut abheben, in hyperisotonischen [2]) Lösungen wird solches wohl der Fall sein. Die auf der Grenze stehende Concentration wird offenbar mit dem Zellsaft isotonisch sein; hat man diese „plasmolytische Grenzlösung" für zwei Substanzen ermittelt, so sind diese Lösungen auch unter sich isotonisch. Es kommt nur darauf an, eine Pflanze und ein Gewebe zu wählen, in denen in Tausenden von Zellen die Grenze bei genau derselben Concentration überschritten wird, und diese Erscheinung sich leicht und mit voller Schärfe beobachten lässt. Solches ist aber bei den sogenannten Indicatorpflanzen der Fall [3]). Unter diesen wählte ich die *Tradescantia discolor*, und zwar die violette Oberhaut auf der Unterseite des Mittelnerven ausgewachsener Blätter.

---

1) *Opera II*, S. 216.

2) Hamburger in Onderzoekingen van het Physiologisch Laboratorium te Utrecht, 3e Reihe, Bd. X, S. 49, 1886.

3) *Opera II*, S. 153.

Dieses Gewebe ist, wie meine früheren Untersuchungen lehrten, für ähnliche Zwecke durchaus zuverlässig.

Ich habe nun in verschiedenen Versuchen die plasmolytische Grenzconcentration des Rohrzuckers für dieses Gewebe, und den ihr jedesmal entsprechenden analogen Werth für die Raffinose bestimmt. Aus diesen Zahlen lässt sich, nach dem angeführten Gesetze, das Molekulargewicht der Raffinose ohne Weiteres berechnen.

Da die oben mitgetheilten Zahlen für das Molekulargewicht der Raffinose sehr weit auseinander liegen, müsste ich durch einen Vorversuch zunächst entscheiden, welche von ihnen der Wahrheit am nächsten entsprach, ehe ich an die genaue Ermittelung herantreten konnte. Ich bin dabei von folgender Berechnung ausgegangen.

Eine Lösung von 0.22 Mol. Rohrzucker pflegt in den erwähnten Zellen von *Tradescantia discolor* einen schwachen Grad von Plasmolyse hervorzurufen. Eine Lösung von 0.22 Mol. Raffinose muss sich also, nach dem obigen Gesetze, gleich verhalten. Eine solche Lösung enthält aber, je nachdem man eine der drei Formeln annimmt, 0.22×396, 0.22×594 oder 0.22×1188 Gramm pro Liter, ihre Concentration ist demgemäss 8.7, 13.1 oder 26.1 pCt. der kristallwasserhaltenden Substanz. Ich bereitete mir nun eine Lösung von 13.1 pCt. und brachte in diese ein Praeparat des nahmhaft gemachten Gewebes. Ist das Molekulargewicht $= 396$, so muss darin eine sehr starke Plasmolyse eintreten; ist es $= 594$, so muss diese Erscheinung in schwächerm Grade, und bei einem Molekulargewicht von 1188 muss sie gar nicht eintreten. Nach 4 Stunden zeigte sich, dass der zweite Fall vorlag; in sämmtlichen Zellen war der Protoplast an einer kleinen Ecke von der Zellhaut abgehoben. Nur die Ansicht von Loiseau und Scheibler konnte also richtig sein. Zur Contrôle machte ich noch eine Lösung von 26.1 pCt.; in dieser war nach vier Stunden die Plasmolyse so stark, dass die Protoplaste sich bis auf etwa die Hälfte ihres ursprünglichen Volumens contrahirt hatten. Diese Lösung hatte also eine etwa doppelt so grosse Spannkraft wie der Zellsaft, was mit dem Resultate des ersteren Versuches übereinstimmt.

Für die genaue Bestimmung der osmotischen Spannkraft der Raffinose stellte ich mir zwei Reihen von Lösungen her. Die erste von reinem Kandiszucker; diese wurden der einfacheren Berechnung halber gleich nach Grammmolekülen (= 342 Gramm) pro Liter gewählt, und zwar in Concentrationen von 0.16—0.18—0.20—0.22—0.24 und 0.26 Molekül. Für die zweite Reihe machte

ich die Lösungen nach Prozenten der kristallwasserhaltenden Substanz. Sie enthielten 9, 10, 11, 12, 13 und 14 pCt. Raffinose. Für jeden Versuch wurde von jeder dieser Lösungen 2—5 CCm. in einen kleinen Glascilinder gebracht und mit einem Praeparat aus der violetten Oberhaut des Blattnerven von *Tradescantia discolor* beschickt. Und zwar wurden die Praeparate in jedem Versuch einem und demselben Blatte entnommen, und aus diesem in möglichst geringer Entfernung von einander geschnitten. Benachbarte Schnitte kamen dabei stets in nahezu isotonische Lösungen, um die Vergleichbarkeit eine möglichst vollständige zu machen.

Jeder Versuch dauerte 4 Stunden. Dann wurden die Praeparate unter dem Mikroskop, bei etwa 100-maliger Vergrösserung untersucht. Nach weiteren zwei bis vier Stunden wiederholte ich diese Prüfung und überzeugte mich in jedem einzelnen Fall, dass die gesuchte Grenze sich nicht verschoben hatte.

Die Resultate der vier, mit verschiedenen Blättern ausgeführten Versuche enthält die folgende Tabelle. Am Kopfe der einzelnen Spalten findet man die Concentrationen der Lösungen in obiger Weise ausgedrückt. Es bedeutet I. C. die sich aus dem Versuch ergebende, mit dem Zellsaft isotonische Concentration. Das Verhältniss dieser beiden Zahlen, durch 10 dividirt, gibt die mit 0.1 Mol. Rohrzucker isotonische Concentration der Raffinose in pCt.

Es bedeutet ferner: *n* keine Zelle plasmolysirt, *hp* etwa die Hälfte der Zellen und *p* sämmtliche Zellen plasmolysirt. Die mit *n* bezeichneten Lösungen waren also, in Bezug auf dem Zellsaft hypisotonisch, die durch *hp* angedeuteten isotonisch, und die einen *p* führenden hyperisotonisch.

Im Uebrigen vergleiche man über die Bedeutung solcher Tabellen meine oben citirte Arbeit [1])

Versuch	Mol. Rohrzucker						pCt. Raffinose.							
	0.16	0.18	0.20	0.22	0.24	I. C.	9	10	11	12	13	14	I. C.	$\frac{\text{I. C. Raff.}}{\text{I. C. Rohrz.}} \times \frac{1}{10}$
I		n	p	p	p	0.19	n	n	p	p			10.5	5.526
II	n	p	p	p	p	0.17	n	n	p	p			10.5	6.176
III	n	p	p	p	p	0.17	n	hp	p	p			10.0	5.882
IV		n	hp	p	p	0.20	n	n	n	hp	hp	p	12.5	6.250

Im Mittel ist also die mit 0.1 Mol. Rohrzucker isotonische Concentration der Raffinose:

$$= 5.957 \text{ pCt.}$$

1) *Opera II*, S. 158—172.

Zu bemerken ist, dass diese Zahl eine rein empirische ist, und dass zu ihrer Ermittelung keine theoretische Voraussetzung erforderlich war.

Um mich von der Zuverlässigkeit des erhaltenen Resultates noch weiter zu überzeugen, habe ich noch einige Controllversuche nach genau derselben Methode gemacht. Erstens habe ich die Versuche wiederholt mit einer im hiesigen chemischen Laboratorium aus Baumwolle dargestellten Raffinose, welche nicht so schön kristallisirt und nicht so völlig aschenfrei war als das oben benutzte, aus dem Handel bezogene Muster. Zweitens habe ich die Versuche, welche bei 15° C gemacht waren, bei etwa 0° C wiederholt. Drittens habe ich statt der *Tradescantia discolor* die *Begonia manicata* als Indicatorpflanze benutzt. In allen diesen Versuchen fand ich das mitgetheilte Resultat bestätigt, da die Concentrationen der Raffinose, welche mit 0.1 Mol. Rohrzucker isotonisch waren, nur unerheblich von der obigen Zahl abwichen. Da die Versuche aber nur zur Contrôle, und also nicht mit derselben Genauigkeit ausgeführt wurden, unterlasse ich es, auf die erhaltenen Zahlen näher ein zu gehen.

Wenn es sich nun darum handelt, aus dem rein empirischen Resultate unserer Versuche das Molekulargewicht der Raffinose zu berechnen, so haben wir darauf das im Anfange citirte Gesetz anzuwenden. Dieses lehrte uns, dass die mit 0.1 Mol. Rohrzucker isotonischen Lösungen anderer organischer Verbindungen gleichfalls im Liter annähernd 0.1 Molekül enthalten müssen.

Hieraus folgt, das für Raffinose, annähernd:

$$5.957 \text{ pCt.} = 0.1 \text{ Mol. pro Liter}$$

ist.

Das Molekulargewicht der Raffinose ist also annähernd = 595.7.

Die von den verschiedenen Formeln geforderten Molekulargewichte waren aber:

$C_{12}H_{22}O_{11} + 3H_2O$ 396
$C_{18}H_{32}O_{16} + 5H_2O$ 594
$C_{36}H_{64}O_{32} + 10H_2O$ 1188

Wir finden also mit der zweitgenannten Formel eine sehr genügende Uebereinstimmung. Es folgt daraus aber, dass, nach dem Gesetze der isotonischen Coëfficienten, nur diese von Loiseau aufgestellte und von Scheibler in so überzeugender Weise vertheidigte Formel die richtige sein kann.

(Verslagen en Mededeelingen der Koninklijke Akademie van Wetenschappen, Afd. Natuurkunde, 3de Reeks. Deel V, 1889, S. 52).

UEBER EINE NEUE ANWENDUNG DER PLASMOLYTISCHEN METHODE.

Die Berechnung des isotonischen Coëfficienten einer gegebenen, in Wasser löslichen Verbindung mittelst der in meiner Methode zur Analyse der Turgorkraft aufgestellten Gesetze [1]), setzt die Kenntniss des Moleculargewichts des fraglichen Körpers voraus. Aus jenem Coëfficienten kann man dann diejenigen Concentrationen des betreffenden Körpers im Voraus berechnen, welche mit gegebenen Lösungen anderer Verbindungen isotonisch sind, d. h., welche dieselbe Anziehung für Wasser besitzen als diese.

Umgekehrt kann man aber aus jenen Gesetzen und dem Resultate einer experimentellen Ermittelung des isotonischen Werthes einer Verbindung in verdünnter wässriger Lösung, das Moleculargewicht dieser Verbindung annähernd berechnen. In ähnlicher Weise, wie für Gase, hat eine solche Berechnung in allen jenen Fällen Werth, in denen das Studium der chemischen Eigenschaften eines Körpers die Wahl zwischen mehreren, dieselbe elementare Zusammensetzung anweisenden, aber verschiedenen Moleculargewichten entsprechenden Formeln frei lässt.

Die Ermittelung des isotonischen Werthes ist nun für alle in Wasser löslichen Verbindungen, welche in Pflanzenzellen die Erscheinung der normalen Plasmolyse hervorrufen können, eine sehr einfache Operation. Man braucht dazu nur diejenige Concentration zu ermitteln, welche in den farbigen Oberhautzellen einer Indicatorpflanze den Anfang der Plasmolyse hervorruft. Indem man nun gleichzeitig für dasselbe Gewebe die isotonische Concentration des Salpeters, oder einer anderen bekannten Verbindung bestimmt, kann man die Aufgabe durch die Vergleichung der beiden gefundenen, unter sich offenbar isotonischen Concentrationen lösen.

Am einfachsten wird diese Lösung, wenn beide Körper denselben isotonischen Coëfficienten haben, also zu derselben der l. c. aufgestellten Gruppen gehören. Die beiden isotonischen Lösungen enthalten dann im Liter annähernd die gleiche Anzahl von Molecülen, und aus dem bekannten Moleculargewicht der

1) *Opera II*, S. 216.

einen kann also der fragliche Werth für die andere gefunden werden.

Da diese Anwendung gleichzeitig ein scharfes Kriterium für die Leistungsfähigkeit und Genauigkeit der plasmolytischen Methode abgiebt, so sei es mir erlaubt, hier ein Beispiel anzuführen. Ich wähle dazu die Raffinose, eine Zuckerart, welche in den letzten Jahren in der Rübenzuckerindustrie eine bedeutende Rolle spielt, da sie das polarisirte Licht in viel höherem Grade dreht als der Rohrzucker und somit die Bestimmung des letzteren in den Melassen, in denen beide Substanzen neben einander vorkommen, auf optischem Wege, unsicher macht. Die Raffinose kommt in geringer Menge im Safte der lebenden Rüben vor, und zwar allem Anscheine nach, in etwas erheblicherer Menge als sich aus dem Gehalt der Melassen ableiten lassen würde. Sie muss somit während des Fabriksprocesses zum guten Theil zersetzt werden. Ausser in Rüben wurde sie bis jetzt in Weizen und Gerste aufgefunden.

Die Raffinose wurde im Jahre 1876 von Loiseau entdeckt. Nach Tollens ist sie identisch mit der von Johnston und Berthelot aus *Eucalyptus*-manna bereiteten Melitose, und nach Scheibler mit der Gossypose, welche Ritthausen und Boehm aus Baumwollensamen gewonnen haben.

Ueber die Moleculargrösse dieser Verbindung werden jetzt von verschiedenen Forschern drei verschiedene Ansichten vertreten, welche ihren Ausdruck in folgenden Formeln finden:

	Moleculargewicht.
$C_{12} H_{22} O_{11} + 3 H_2 O$	396
$C_{18} H_{32} O_{16} + 5 H_2 O$	594
$C_{36} H_{64} O_{32} + 10 H_2 O$	1188.

Diese drei Formeln entsprechen derselben elementaren Zusammensetzung. Die erstere, von Ritthausen und Berthelot vertretene, beruht auf der Annahme eines Krystallwassergehaltes von 13.46 %, die zweite von Loiseau herrührende und von Scheibler vertheidigte, auf einem Krystallwassergehalt von 15.15 %, während die dritte von Tollens und Rischbiet aufgestellte dem letzteren Werthe, sowie einigen hier nicht anzuführenden chemischen Eigenschaften zu genügen sucht [1]).

[1]) Die chemische Litteratur über diesen Gegenstand findet man in Stammer's Jahresbericht über die Untersuchungen und Fortschritte der Zuckerfabrikation. Bd. XXV. 1885. S. 162—202, sowie in meiner inzwischen in der *Opera II*, S. 498 erschienenen ausführlichen Arbeit zusammengestellt.

Es war also meine Aufgabe, auf plasmolytischem Wege eine Wahl zwischen den drei angeführten Werthen zu treffen. Ich verfuhr dazu in folgender Weise. Als Indicatorpflanze wählte ich die *Tradescantia discolor* und zwar die violetten Zellen der unterseitigen Oberhaut des Mittelnerven ausgewachsener Blätter. Dieses Gewebe hatte sich bei meinen früheren Untersuchungen für die Ermittelung der isotonischen Coëfficienten als durchaus zuverlässig bewährt. Denn sobald die Concentration der Lösung, in welche man Schnitte aus diesem Gewebe gebracht hat, den isotonischen Werth des Zellsaftes auch nur um ein geringes überschreitet, tritt in allen Zellen gleichmässig die Erscheinung der Plasmolyse ein. Es lässt sich also die mit dem Zellsaft isotonische Concentration der Lösung einer gegebenen Substanz mit voller Schärfe ermitteln. Führt man nun diese Bestimmung für zwei verschiedene Körper aus, so sind die gefundenen Concentrationen offenbar auch unter sich isotonisch. Und gehören endlich beide Verbindungen zu derselben Gruppe, d. h. besitzen sie denselben isotonischen Coëfficienten, so enthalten die beiden Lösungen isotonischer Concentration pro Liter auch annährend dieselbe Anzahl von Molecülen.

Aus letzterem Grunde habe ich nun den isotonischen Werth der Raffinose mit demjenigen einer verwandten Zuckerart verglichen, und wählte dazu, aus leicht ersichtlichen Gründen, den Rohrzucker. Ich stellte mir Lösungen von 0.16, 0.18, 0.20, 0.22, 0.24, 0.26 und 0.28 Mol. Rohrzucker her, indem ich reinen Kandiszucker zu 0.30 Mol. auflöste und in entsprechender Weise verdünnte. Ebenso bereitete ich mir aus reinster krystallisirter Raffinose Lösungen von 9, 10, 11, 12, 13, 14 und 15 %. Diese Zahlen weisen den Gehalt an fester Substanz und Krystallisationswasser an, da sie sich auf die zur Auflösung benutzten wasserhaltigen Krystalle beziehen. Sie sind also direct mit den oben in ähnlicher Weise berechneten Moleculargewichten vergleichbar.

Für jeden Versuch wurde in 2—5 CC einer jeden dieser Lösungen ein einige Hunderte von Zellen umfassendes Präparat aus dem oben genannten Gewebe gebracht. Die Präparate wurden derart vertheilt, dass in die voraussichtlich nahezu isotonischen Lösungen benachbarte Theile der Oberhaut kamen. Nach vierstündigem Aufenthalt wurde der Grad der Plasmolyse bestimmt, nach weiteren 2—4 Stunden wurde constatirt, dass dieser sich nicht verändert hatte.

Von jedem einzelnen Versuche führe ich nur die Zahlen an,

welche die gesuchte Grenze am nächsten umschliessen. Es bedeutet *n* dass in keiner Zelle, *p* dass in allen Zellen Plasmolyse eingetreten war; *hp* dass solches in etwa der Hälfte der Zellen der Fall war. *IC* bedeutet die aus den Beobachtungen in jedem Versuch abgeleitete, mit dem Zellsaft isotonische Concentration. Die letzte Spalte enthält die aus dem Verhältniss dieser beiden Zahlen abgeleitete mit 0.1 Molecül Rohrzucker isotonische Concentration der Raffinose.

	Mol. Rohrzucker						% Raffinose							
Versuch	0.16	0.18	0.20	0.22	0.24	I. C.	9	10	11	12	13	14	I. C.	0.1 Mol.
I		n	p	p	p	0.19	n	n	p	p			10.5	5.526%
II	n	p	p	p	p	0.17	n	n	p	p			10.5	6.176%
III	n	p	p	p	p	0.17	n	hp	p	p			10.0	5.882%
IV		n	hp	p	p	0.20	n	n	n	hp	hp	p	12.5	6.250%

Im Mittel ist also die mit 0.1 Mol. Rohrzucker isotonische Concentration der Raffinose = 5.957 %.

Da nun diese Lösung, nach den Gesetzen der isotonischen Coëfficienten, annähernd 0.1 Mol. im Liter enthält, so findet man also das Moleculargewicht der Raffinose annähernd = 595.7.

Vergleichen wir jetzt dieses Ergebniss mit den drei oberen angeführten Werthen 396, 594 und 1188, zwischen denen wir zu entscheiden hatten, so finden wir mit der zweitgenannten Zahl eine sehr genügende Uebereinstimmung.

Es folgt daraus aber, dass nur die von Loiseau und Scheibler vertheidigte Formel $C_{18} H_{32} O_{16} + 5 H_2 O$ der osmotischen Spannkraft der Raffinose entspricht, und dass also nur diese die richtige sein kann [1]).

(Botanische Zeitung 1888, S. 393).

1) Dieses Ergebniss wurde vorläufig mitgetheilt in der *Opera II*, S. 482 und seitdem von Tollens und Mayer nach der Methode der Gefrierpunktserniedrigung bestätigt (Ber. d. d. chem. Ges. XXI. Nr. 7. S. 1566).

OSMOTISCHE VERSUCHE MIT LEBENDEN MEMBRANEN.

(Mit 3 Holzschnitten.)

Bekanntlich haben Guldberg und Raoult gezeigt, dass zwischen der Dampfspannung und dem Gefrierpunkte einer wässerigen Lösung eine solche Beziehung obwaltet, dass Lösungen von verschiedenen Substanzen aber von derselben Dampfspannung auch denselben Gefrierpunkt haben. 1) Gelegentlich meiner Untersuchungen über den osmotischen Druck habe ich dann den Satz ausgesprochen, dass auch zwischen diesem und dem Gefrierpunkt bei wässerigen Lösungen dieselbe Beziehung obwaltet. 2) Es haben somit isotonische Lösungen 3) (d. h. Lösungen von demselben osmotischen Druck) denselben Gefrierpunkt und dieselbe Dampfspannung. Dieser Satz ist von van 't Hoff auf theoretischem Wege streng bewiesen worden, 4) und seine experimentelle Grundlage ist durch die Vergleichung der seitdem von Raoult für die Gefrierpunktserniedrigungen 5) und von Tammann für die Dampfspannungen wässeriger Lösungen 6) gefundenen Werten mit meinen Zahlen, wie mir scheint, über allen Zweifel erhoben worden.

Mittelst dieses Satzes lassen sich die Untersuchungen über die Gefrierpunkte und Dampfspannungen von Lösungen als experimentelle Belege verwerten für den von van 't Hoff aufgestellten Satz über die Beziehung zwischen Gasdruck und osmotischem Druck. Und diese Erweiterung der Avogadroschen Gesetzes auf verdünnte Lösungen, welche auch in dieser Zeischrift bereits mehrfach besprochen wurde, 7) führt bekanntlich zur Kenntnis

1) Guldberg, Compt. rend. **70**, 1870 S. 1349 und Raoult, Compt. rend. **87**, 1878 S. 167.

2) *Opera II*, S. 137. Vgl. S. 222—228.

3) Isotonisch, von *ἴσος*, gleich und *τόνος*, Spannung.

4) Sved. Vetensk. Akad. Handlingar **21**, Nr. 17, 1886; und Archives Néerlandaises **20**, 1886, S. 239.

5) Comptes rendus 1884—1888.

6) Mém. de l'Acad. d. Sc. de St. Pétersbourg, 7. Serie, **35**, Nr. 9, 1887.

7) Z. B. von Sv. Arrhenius **1**, 631.

äusserst einfacher und allgemeiner Beziehungen zwischen den anscheinend verschiedenartigsten Eigenschaften von Lösungen sowohl auf physikalischem und chemischem, als auch auf physiologischem Gebiet.

Die direkte Ermittelung der isotonischen Konzentrationen verschiedener Substanzen in wässerigen Lösungen hat durch diese theoretischen Untersuchungen ausser ihrem physiologischen Nutzen auch eine physikalische Bedeutung erlangt. Und da solche Bestimmungen bis jetzt nur auf physiologischem Wege vorgenommen wurden, und ihre Ergebnisse somit nur in physiologischen Zeitschriften und Handbüchern mitgeteilt sind, so ergreife ich mit Freude die mir von den Herausgebern dieser Zeitschrift gebotene Gelegenheit, meine Methode auch den Lesern der Zeitschrift für physikalische Chemie bekannt zu machen.[1])

Diese Methode basiert auf der Ermittelung derjenigen Konzentration einer gegebenen Substanz in wässeriger Lösung, welche denselben osmotischen Druck hat als der Zellsaft bestimmter Pflanzenzellen. Führt man diese Bestimmung für eine Reihe von Substanzen mit demselben Pflanzengewebe aus, so sind die gefundenen Konzentrationen offenbar auch unter sich isotonisch, und die Resultate werden somit von den zufälligen Eigenschaften der benutzten Pflanzenzellen unabhängig. Das Verhältnis zwischen den isotonischen Konzentrationen bezeichne ich als isotonischen Koeffizient, indem ich diesen für den Kalisalpeter, der bei meinen Versuchen stets als Vergleichslösung diente, gleich 3 setze.[2]) Die isotonischen Koeffizienten geben somit die relative Grösse der osmotischen Kraft für Lösungen gleicher molekularer Konzentration an. Sie gelten für Lösungen mit einer osmotischen Kraft von etwa 4—6 Atmosphären (etwa ½—5%).

Durch die Anwendung von Pflanzenzellen ist die Methode beschränkt auf wässerige Lösungen solcher Körper, als von den lebenden Zellen ohne Schaden ertragen werden, und auf Konzentrationen, welche mit dem Zellensaft isotonisch sind, welche also einem osmotischen Druck von etwa 4—6 Atmosphären entsprechen. Innerhalb dieser Grenzen lässt sie aber die Bestimmungen,

1) Tammanns Arbeit: Ueber Osmose durch Niederschlagsmembranen, Wied. Ann. N. F. **34**, 299, erhielt ich erst während der Korrektur dieses Aufsatzes.

2) Für Lösungen von einem Grammmolekül pro zehn Liter weist die Einheit meiner Koeffizienten einen osmotischen Druck von etwa einer Atmosphäre auf.

sowohl für reine Verbindungen als für Gemenge, mit derselben Genauigkeit zu, wie die den gleichen Zweck verfolgenden physikalischen Methoden.

Pflanzenzellen können in sehr verschiedener Weise zur Erreichung des angegebenen Zieles verwendet werden. Von den verschiedenen darauf basierten Methoden empfiehlt sich für chemische Zwecke speziell die plasmolytische, welche auf der Beobachtung der Plasmolyse, d. h. des Eintretens einer Kontraktion des lebenden Protoplasten innerhalb der starren Zellwand beruht. Diese Erscheinung lässt sich leicht und sicher wahrnehmen.

Ich werde mich also in diesem Aufsatz auf die Beschreibung der plasmolytischen Methode in ihrer Anwendung auf die Ermittelung isotonischer Konzentrationen beschränken.

Nicht jede Pflanze und nicht jedes Gewebe ist zu verwenden. Man braucht Zellen, in denen das Eintreten der Plasmolyse bequem zu beobachten ist, und ein Gewebe, in welchem in sämtlichen Zellen diese Erscheinung bei genau derselben Konzentration der äusseren Flüssigkeit anfängt. Als Pflanzen, welche diesen Anforderungen genügen, kennt man bis jetzt *Tradescantia discolor*, *Curcuma rubricaulis* und *Begonia manicata*, und zwar ist das zu wählende Gewebe die violette resp. rote Oberhaut bestimmter Blattteile. 1) Aus diesen Geweben macht man dünne tangentiale Schnitte, deren jeder einige Hunderte von lebenden Zellen enthält. In gelungenen Versuchen sollen sich diese Zellen sämtlich gleich verhalten.

Wir wollen jetzt den Bau dieser Zellen und ihr Verhalten gegenüber unschädlichen Lösungen von grösserer osmotischer Spannung wie der Zellsaft beschreiben.

Unter dem Mikroskop, bei schwacher etwa 100maliger Vergrösserung zeigen sich die namhaft gemachten Präparate als aus vier- bis sechseckigen, in regelmässiger Weise aneinandergefügten Zellen aufgebaut. Ihre Zellhäute sind starr, auf der Aussenseite des Organes von einem für Wasser sehr schwer permeablen Häutchen, der sogenannten Cuticula bekleidet, sonst aber für Wasser und wässerige Lösungen in sehr hohem Grade durch-

---

1) Für *Tradescantia* dem Mittelnerven auf der Blattunterseite, für *Curcuma* der Aussenseite der Blattscheide, und für *Begonia* den obersten Ringschuppen des Blattstieles zu entnehmen. Die vom Messer berührten oder gar durchschnittenen und somit entfärbten Zellen am Rande der Präparate erfahren bei den Versuchen keine Berücksichtigung.

lässig. Sie ändern ihre Grösse und somit das Volumen der von ihnen umschlossenen Zellen auch in stark konzentrierten Salz- und Zuckerlösungen nicht. Sie geben somit einen sichern Anhaltspunkt zur Beurteilung etwaiger Volumänderungen der Protoplaste ab.

Diese letzteren sind allseitig geschlossene Bläschen von kaum messbarer Dicke, welche der inneren Oberfläche der Zellhäute überall dicht angeschmiegt liegen. Sie sind an sich farblos, aber vom farbigen Zellsaft erfüllt. Auf ihre Bedeutung als Träger des Lebens, sowie auf ihren anatomischen Bau kann hier nicht eingegangen werden; bemerkt sei nur, dass man häufig einen Zellkern, einige kleine runde Körner (die Stärkebildner oder Amyloplaste), sowie die Strombahnen des Körnerplasmas unterscheiden kann.

Der Zellsaft ist eine wässerige Lösung von geringer, meist etwa 2—3 prozentiger Konzentration. Er enthält, ausser dem Farbstoff, hauptsächlich Glucose, äpfelsaures Kalium und Calcium und einige anorganische Salze. Diese finden sich darin in wechselnden Mengen, jedoch so, dass sie zusammen einen osmotischen Druck von etwa 4—6 Atmosphären bedingen. Bei *Begonia* ist der Hauptbestandteil des Zellsaftes saures oxalsaures Kalium; die Acidität dieses Saftes ist etwa zehntel-normal. Dementsprechend verträgt diese Pflanze saure Lösungen weit besser als die beiden anderen und ist ihnen deshalb bei Versuchen mit Säuren vorzuziehen.

Die osmotische Membran in diesen Zellen ist der lebende Protoplast, das fast unmessbar dünne, den Zellsaft einschliessende Bläschen. Zwei Eigenschaften sind es, welche ihn für unsere Versuche geeignet machen. Erstens die Permeabilität, zweitens die Geschmeidigkeit.

Die Protoplaste der betreffenden Zellen sind für Wasser sehr leicht permeabel, für gelöste Substanzen aber entweder gar nicht, oder doch nicht in dem Grade, dass ein Einfluss der sehr geringen vorhanden Permeabilität bei unseren osmotischen Versuchen bemerklich werden könnte. Sie genügen also für unsere Zwecke in hinreichender Weise den Anforderungen einer idealen osmotischen Membran. Die einzige bis jetzt bekannte Ausnahme bildet bei *Tradescantia* das Glycerin, welches aus unbekannten physiologischen Gründen von den Protoplasten leicht durchgelassen wird. In den roten Zellen der *Begonia* ist solches aber nicht der Fall; mit diesen Zellen gelang es mir denn auch, den isotonischen Koeffizienten dieses Körpers genau zu ermitteln. In welcher Weise man sich in jedem einzelnen Fall überzeugt, ob die Protoplaste

für einen gegebenen Körper hinreichend impermeabel sind, werde ich weiter unten angeben.

Die Geschmeidigkeit der Protoplaste setzt sie in den Stand, Volumänderungen des von ihnen umschlossenen Zellsaftes genau zu folgen. Bei jeder Verkleinerung dieses Volumens ziehen sie sich zusammen ohne Falten zu werfen, bei jeder Vergrösserung dehnen sie sich wieder aus. Im ersten Falle sind sie stets bestrebt Kugelform anzunehmen, werden daran aber nicht selten durch ihr Kleben an die Zellhaut mehr oder weniger verhindert. Im letzteren werden sie von dem sich vergrössernden Zellsaft schliesslich gegen die starre Zellhaut gedrückt und dieser endlich auf allen Punkten angeschmiegt.

Nach diesen Auseinandersetzungen wird es leicht sein, die Wirkung von Lösungen von verschiedener osmotischer Kraft auf diese Zellen zu begreifen. Ich unterscheide mit Hamburger hypisotonische, isotonische und hyperisotonische Konzentrationen, d. h. also Lösungen von geringerer, gleicher und grösserer osmotischer Kraft als der Zellsaft.[1]) Denken wir uns jetzt, dass ein Präparat mit einigen Hunderten von lebenden Zellen in etwa 5 cc irgend einer unschädlichen wässerigen Lösung eingetaucht wird. Die gelöste Substanz wird im Imbibitionswasser der Zellhäute diffundieren wie in einer nicht organisierten Gallerte und sich in diesem allmählich bis zu derselben Konzentration, als in der umgebenden Flüssigkeit, anhäufen. Dieser Vorgang entzieht sich, wenigstens bei farblosen Substanzen, selbstverständlich der Beobachtung. Aus den Zellhäuten kann die gelöste Substanz aber nicht in die Protoplaste oder den von diesen umschlossenen Zellsaft dringen. Es handelt sich also jetzt nur um die Frage, ob osmotisches Gleichgewicht zwischen diesem Safte und der in den Zellhäuten vorhandenen Lösung obwaltet. Ist solches der Fall, so wird offenbar keine weitere Aenderung eintreten. Ist die Lösung in den Zellhäuten hypisotonisch, so wird der Zellsaft ihr Wasser entziehen und streben sich auszudehnen; er wird daran aber durch die starren Zellhäute verhindert. Ist aber die äussere Lösung hyperisotonisch, so entzieht sie ihrerseits dem Zellsaft Wasser, das Volumen dieses Saftes wird kleiner, und es hört auf, die ganze Höhlung der Zelle auszufüllen. Er bleibt aber von dem Protoplasten eng umschlossen, und dieser hebt sich

1) H. J. Hamburger, im Archiv für Anatomie und Physiologie 1887, Physiol. Abteil. S. 41.

somit stellenweise von der Zellhaut ab. In den freiwerdenden Raum dringt die äussere Lösung aus den Zellhäuten ein, vermischt sich mit dem aus dem Zellsaft entzogenen Wasser, erreicht aber durch die fortwährende Diffusion in den Zellhäuten allmählich die Konzentration der äusseren Lösung. Dabei bleiben der farbige Zellsaft und die farblose eingedrungene Lösung durch den Protoplasten scharf getrennt, und dieser Umstand bedingt, wie man leicht einsieht, die grosse Deutlichkeit der Erscheinung. Die Volumenverminderung des Zellsaftes dauert fort, bis seine Konzentration soweit gestiegen ist, dass das osmotische Gleichgewicht mit der eingedrungenen Lösung hergestellt ist.

In Figur 1 ist bei *A* eine Zelle im normalen Zustande abgebildet; der violette Zellsaft erfüllt die ganze Höhlung; der Protoplast liegt

Fig. 1.

A B C

k a s p h s r r' p r p p p p

Zellen aus der Oberhaut des Mittelnerven eines Blattes von *Tradescantia discolor*. *A* normale Zelle. *B* Plasmolyse in 0.22 Mol. Rohrzucker. *C*. sehr starke Plasmolyse in 1.0 Molekül Kalisalpeter. *k* Zellkern; *a* Amyloplaste; *s* Strombahnen des Protoplasma; *p* der Protoplast; *h* die Zellhaut. Der Zellsaft, in der Figur schraffiert, ist violett gefärbt. Vergrösserung $^{300}/_{1}$.

zwischen dieser und der dicken Zellhaut, ist aber zu dünn, um sichtbar zu sein. In Fig. 1 *B* ist ein schwacher Grad von Plasmolyse dargestellt; das Präparat hatte zwei Stunden in einer Lösung von 0.22 Mol. Rohrzucker verweilt. Dieser war bei *r* und *r'* durch die Zellhaut eingedrungen, während der Zellsaft Wasser verloren und der Protoplast *p* sich entsprechend zusammengezogen hatte. Der farbige Zellsaft und die farblose eingedrungene Lösung sind aber durch die äusserst dünne lebende Membran völlig scharf getrennt. Das Präparat war einem Blatte entnommen, dessen Zellen von 0.20 Mol. Rohrzucker nicht plasmolysiert wurden; die

Plasmolyse wurde hier somit durch ein Ueberschreiten der Grenze um nur 0.02 Mol. hervorgerufen.

In Figur 1 *C* habe ich einen sehr starken Grad von Plasmolyse abgebildet, wie er bei meiner Methode keine Verwendung findet. Das Präparat hatte zwei Stunden in einer Lösung von 1.0 Mol. Kalisalpeter verweilt; diese ist mit etwa 1.6 Mol. Rohrzucker isotonisch. Der Protoplast hat sich, wie man sieht, stark kontrahiert; das Volumen des Zellsaftes ist so viel kleiner geworden, dass seine osmotische Kraft jetzt mit derjenigen der eingedrungenen Salzlösung sich im Gleichgewicht befindet. Der Protoplast blieb an einzelnen Stellen Zellhaut kleben, und ist hier zu dünnen Fäden ausgezogen worden.

Wie man aus den Figuren ersieht, ist es nicht nur leicht zu sehen, ob überhaupt Plasmolyse eingetreten ist oder nicht, sondern ist namentlich die Grenze zwischen hypisotonischen und hyperisotonischen Lösungen einer scharfen Bestimmung fähig. Als Resultat für die praktische Anwendung der Plasmolyse gilt also, dass hypisotonische und isotonische Lösungen keine sichtbaren Aenderungen in den Zellen hervorrufen, während hyperisotonische Lösungen sich als solche erkennen lassen werden durch das Abheben des gefärbten Inhaltes von der Zellhaut und das Auftreten einer farblosen Flüssigkeit zwischen jenem Inhalt und der Zellwand.

Hat man die höchste hypisotonische und die niedrigste hyperisotonische Konzentration einander hinreichend genähert, so darf man das Mittel zwischen diesen beiden als die mit dem Zellsaft isotonische Konzentration annehmen.

Aus dieser Beschreibung geht hervor, dass die mit dem Zellsaft isotonische Konzentration um so schärfer bestimmt werden wird, je näher man die höchste hypisotonische und die niedrigste hyperisotonische Konzentration aneinander rücken kann. Diese Annäherung hat aber in der Praxis ihre Grenze, welche vorwiegend dadurch bedingt wird, dass die osmotische Spannung des Zellsaftes in den einzelnen Zellen desselben Gewebes nicht völlig dieselbe ist.

In jeder einzelnen Zelle ist es leicht, die niedrigste zur Plasmolyse erforderliche Konzentration mit grosser Genauigkeit zu bestimmen. In den gefärbten Oberhautzellen der namhaft gemachten Pflanzen pflegt die Abhebung des Protoplasten von der Zellhaut in den Winkeln der Zellen anzufangen, und zwar so, dass hier kleine farblose Ecken entstehen, welche auch bei äus-

serst geringer Ausdehnung sich scharf vom übrigen gefärbten Zellinhalt abheben. Diese Erscheinung sieht man bei langsam zunehmender Konzentration zunächst an einer Ecke, dann an mehreren, und gleichzeitig nimmt der Umfang der farblosen Stellen zu.

Um eine klare Einsicht in die Schärfe dieser Beobachtungen zu geben, wollen wir die Grösse der farblosen Stellen für einen bestimmen Fall berechnen. Wir wählen dazu eine nahezu rechteckige Zelle, deren Zellsaft isotonisch ist mit 1.4% Salpeter, und von dieser Lösung also noch gerade nicht plasmolysiert wird. Wie stark wird die Kontraktion ihres Inhaltes in 1.5% Salpeter sein? Die Zellen der fraglichen Oberhäute sind scheibenförmig, und überall nahezu von derselben Dicke; wir dürfen also unsere Berechnung einfach auf das mikroskopische Bild beziehen. Die Konzentration des Zellsaftes nimmt in der Lösung von 1.5% auf $\frac{1.5}{1.4}$ ihres ursprünglichen Wertes zu; das Volum nimmt also in dem gleichen Verhältnis ab. Es wird somit auf $^{14}/_{15} = 0.933$ des anfänglichen Volumens reduziert. In den schematischen Figuren 2 *A* und *B* habe ich diesen Grad der Kontraktion bildlich dargestellt, und zwar in Figur 2 *A* für den Fall, dass die Ablösung des Protoplasten von der Zellhaut gleichmässig auf einer Wand beginnt, und in Figur 2 *B* für den Fall, dass sie an einer Ecke anfängt. Wie man auf dem ersten Blick sieht, ist die Kontraktion nicht nur leicht zu beobachten, sondern es würden sich auch viel geringere Kontraktionen noch deutlich erkennen lassen. Auch sieht man, dass diese Konstruktion mit dem in Figur 1 *B* (S. 518) dargestellten, der direkten Beobachtung entnommenen Bilde hinreichend übereinstimmt.

Ich habe bei der obigen Berechnung eine gegenseitige Annäherung der beiden Grenzwerte bis auf 0.1% KNO_3 aus dem Grunde gewählt, weil diese thatsächlich die bei den Versuchen erreichbare Grenze der Genauigkeit darstellt. Denn wenn man die höchste hypisotonische Konzentration des Salpeters mit 0.1% überschreitet, so tritt gewöhnlich in allen Zellen des Präparates, auch wenn deren Zahl mehrere Hunderte beträgt, gleichzeitig die Plasmolyse ein. Versucht man es aber, die Grenzwerte einander noch näher zu rücken, so zeigen sich Differenzen in den einzelnen Zellen, indem einige plasmolysiert werden, und andere nicht. Es leuchtet ein, dass durch ein Einschalten solcher Fälle zwischen die beiden Grenzwerte die Genauigkeit der Bestimmung nicht erhöht werden kann. Und da eine Genauigkeit bis auf 0.1% Sal-

peter für die zu verfolgenden Zwecke völlig ausreicht, habe ich von weiteren Versuchen in dieser Richtung Abstand genommen.

Es ist leicht, nach dem gegebenen Beispiel auch für andere Substanzen die erreichbare Annäherung der beiden Grenzwerte zu beurtheilen. Denn offenbar muss diese in jedem einzelnen Fall denjenigen Wert haben, welcher mit 0.1% KNO_3 isotonisch ist.

Fig. 2.

Schematische Darstellung der Plasmolyse bei einer Ueberschreitung der Grenze mit 0.1 Prozent Kalisalpeter. *k* Zellkern; *a* Amyloplaste; *p* Protoplast; *o* eingedrungene Salzlösung. Der violette Zellsaft ist schrafiert. Vergrösserung $^{300}/_{1}$.

Fig. 3.

Ein kleiner Teil eines Präparates von *Tradescantia discolor*, denjenigen Grad der Plasmolyse zeigend, welcher als Indikator dient. Vergrösserung: $^{80}/_{1}$.

Bis jetzt haben wir stets angenommen, dass die lebenden Protoplaste für die zu untersuchenden gelösten Substanzen in solchem Grade impermeabel sind, dass die geringe, stets vorhandene Permeabilität auf das Resultat unserer Versuche keinen Einfluss ausüben kann. Um sich in jedem einzelnen Fall von der Richtigkeit dieser Voraussetzung zu überzeugen, giebt es verschiedene Wege. Der eine beruht auf folgender Ueberlegung. Wenn eine Zelle, welche in sehr schwachem Grade plasmolysiert worden ist, längere Zeit in derselben Lösung verweilt und während dieser Zeit merkliche Spuren der gelösten Substanz in den Zellsaft übergehen, so muss dessen osmotische Kraft offenbar allmählich zunehmen. Und dieses wird sich durch eine Ausdehnung des Protoplasten und schliesslich durch das Verschwinden der vorhandenen Plasmolyse anzeigen. In den Zellen der drei oben genannten Pflanzen tritt diese Erscheinung nun von den bis jetzt untersuchten unschädlichen Substanzen nur mit Glycerin bei *Tradescantia discolor* ein; für sämtliche Kör-

per kann man sie aber leicht hervorrufen, wenn man durch Zusatz einer geringen Menge einer starken Säure oder Base zu der Lösung dem Protoplasten künstlich eine grössere Permeabilität verleiht. Solches hat dann aber früher oder später ihren Tod zur Folge.

Eine andere Methode zur Erreichung desselben Zweckes ist die folgende. Wenn die Präparate nicht plötzlich in die fertige Lösung gebracht werden, sondern erst in eine schwach konzentrierte, deren Stärke man aber allmählich zunehmen lässt, so wird für den Fall einer merklichen Permeabilität der Protoplaste eine geringe Menge der gelösten Substanz in den Zellsaft übertreten, ehe die isotonische Konzentration erreicht ist. Durch diese Zunahme der osmotischen Kraft des Zellsaftes muss aber offenbar die gesuchte Grenze zu hoch gefunden werden. Eine Vergleichung dieser Grenze bei langsam zunehmender Konzentration und bei plötzlichem Eintauchen wird also lehren, ob ein merklicher Einfluss der Permeabilität auf die Resultate der Versuche vorhanden ist oder nicht. Findet man in beiden Versuchen genau dieselbe Grenze, so ist solches offenbar nicht der Fall. Für eine Reihe neutraler Substanzen habe ich solche Versuche durchgeführt; sie ergaben dasselbe Resultat, wie die erstgenannte Methode. 1)

Ausführung der Versuche und Resultate. Wie aus dem Obigen erhellt, erfordert die genaue Würdigung meiner Methode eine eingehende Kenntnis der osmotischen Eigenschaften der betreffenden Zellen. Dagegen ist die Ausführung einer Bestimmung eine sehr einfache und bequeme Operation, namentlich für denjenigen, der mit der Herstellung und Untersuchung einfacher mikroskopischer Präparate vertraut ist. Man verfährt dabei in folgender Weise. Zuerst bestimmt man durch einen Vorversuch oder durch Berechnung aus den Resultaten der Versuche mit verwandten Körpern annähernd die Lage der gesuchten Grenze. Dann stellt man sich von jeder der beiden zu vergleichenden Substanzen fünf bis sechs Lösungen her, welche die zu erwartende Grenze umschliessen, und welche unter sich um Werte differieren, die mit 0.1% KNO_3 annähernd isotonisch sind. Von jeder dieser Lösungen bringt man 5—10 cc, oder im Notfall 2—3 cc in ein kleines Cylindergläschen. Darauf stellt man aus der gefärbten Oberhaut von einer der drei oben genannten Pflanzen kleine Schnitte her, welche nicht viel dicker sind als die Oberhautszellen und von diesen je 200 bis 300 um-

1) *Opera II*, S. 428 bis 440.

fassen. Für denselben Versuch entnimmt man die Präparate selbstverständlich demselben Blatte und in möglichster Nähe von einander. In jedes Cylindergläschen bringt man ein Präparat, lässt es hierin 3—5 Stunden verweilen, damit das osmotische Gleichgewicht in allen Zellen eingetreten sei, und untersucht darauf unter dem Mikroskop bei etwa 100facher Vergrösserung, ob Plasmolyse eingetreten ist oder nicht.

Im zweiten Falle ist das ganze Präparat, mit Ausnahme des toten, farblosen Randes, gleichmässig violett gefärbt; im ersten zeigen sich in jeder Zelle eine oder mehrere kleine farblose Ecken, welche sich vom violetten Zellsaft scharf abheben. In der Figur 3 ist dieser Grad der Plasmolyse bei schwacher Vergrösserung dargestellt; das Präparat lag in 0.22 Mol. Rohrzucker, während 0.20 Mol. in keiner Zelle Plasmolyse hervorrief.

Wie man sieht, ist die Entscheidung über die Lage der Grenze eine sehr scharfe und bequeme. Man hat aber darauf zu achten, dass die Präparate je etwa 100—200 Zellen umfassen und dass diese sich genau in derselben Weise verhalten. Sollte dieses nicht der Fall sein, so erreicht der Versuch nicht die erforderliche Schärfe.

In dieser Weise findet man also die höchste hypisotonische und die niedrigste hyperisotonische Konzentration für jeden der beiden untersuchten Körper. Das Mittel aus diesen beiden Werten wird als die mit dem Zellsaft isotonische Konzentration betrachtet, und die mit dem Zellsaft desselben Gewebes isotonischen Konzentrationen der beiden fraglichen Substanzen sind offenbar auch unter sich isotonisch.

Bestimmung der isotonischen Koeffizienten. Ich habe für eine Reihe von in pflanzenphysiologischer Beziehung wichtigen Verbindungen die mit dem Zellsaft isotonische Konzentration in der oben angegebenen Weise bestimmt, und dabei, um das Resultat vom Zellsafte unabhängig zu machen, diesen Wert in jedem Versuch mit dem analogen Wert für einen und denselben Körper verglichen. Der letztere war, aus physiologischen Gründen, der Kalisalpeter. Vermittelst dieser Versuchsresultate habe ich dann das Verhältnis dieser isotonischen Konzentrationen in Molekularmengen der betreffenden Körper zum Ausdruck gebracht und dem reciproken Wert dieser Zahlen den Namen von *isotonischen Koeffizienten* beigelegt; sie zeigen offenbar ohne weiteres die relative osmotische Kraft von Lösungen gleicher molekularer Konzentration an. Ich habe sie in solcher Weise berechnet, dass ich den Koeffizienten des Salpeters = 3 setzte.

Tabelle der isotonischen Koeffizienten.

Stoffe	Formeln	Isotonische Koeffizienten nach der plasmolytischen Methode	der Transport-Methode	der Methode der Gewebespannung	der Methode der Blutkörperchen
I. Gruppe					
Glycerin 1)	$C_3 H_8 O_3$	1.78	—	—	—
Invertzucker	$C_6 H_{12} O_6$	1.88	—	1.84	—
Rohrzucker	$C_{12} H_{22} O_{11}$	1.81	1.95	1.84	1.72
II. Gruppe.					
Äpfelsäure	$C_4 H_6 O_5$	1.98	—	—	—
Weinsäure	$C_4 H_6 O_6$	2.02	—	—	—
Citronensäure	$C_6 H_8 O_7$	2.02	—	—	—
III. Gruppe.					
Äpfelsaures Magnesium	$Mg C_4 H_5 O_5$	1.88	—	1.63	—
Schwefelsaures „	$Mg S O_4$	1.96	—	1.78	2.44
IV. Gruppe.					
Salpetersaures Kalium	$K N O_3$	3.0	—	—	3.0
„ Natrium	$Na N O_3$	3.0	—	—	—
Chlorkalium	$K Cl$	—	3.0	2.84	—
Chlornatrium	$Na Cl$	3.0	—	3.05	3.0
Chlorammonium	$N H_4 Cl$	—	—	—	—
Jodkalium	$K J$	—	—	—	3.04
Jodnatrium	$Na J$	—	—	—	2.90
Bromkalium	$K Br$	—	—	—	3.05
Bromnatrium	$Na Br$	—	—	—	3.03
Essigsaures Kalium	$K C_2 H_3 O_2$	3.0	—	—	2.85
Doppeltcitronens. Kalium	$K H_2 C_6 H_5 O_7$	3.05	—	—	—
V. Gruppe.					
Oxalsaures Kalium	$K_2 C_2 O_4$	—	—	3.93	4.07
Schwefelsaures Kalium	$K_2 S O_4$	—	3.9	3.92	4.7
Phosphorsaures Kalium	$K_2 H P O_4$	—	—	3.96	—
Weinsaures Kalium	$K_2 C_4 H_4 O_6$	—	—	3.99	—
Äpfelsaures Kalium	$K_2 C_4 H_4 O_5$	—	—	4.11	—
Einfach citronens. Kalium	$K_2 HC_6 H_5 O_7$	4.08	—	—	—
VI. Gruppe.					
Chlorcalcium	$Ca Cl_2$	4.33	—	—	4.05
Chlormagnesium	$Mg Cl_2$	4.33	—	—	3.84
Chlorbaryum	$Ba Cl_2$	—	—	—	4.03
CitronensauresMagnesium	$Mg_3 (C_6 H_5 O_7)_2$	3.88	—	3.53	—
VII. Gruppe.					
Citronensaures Kalium	$K_3 C_6 H_5 O_7$	5.01	—	4.74	—

1) *Opera II,* S. 509.

Die von mir nach der beschriebenen Methode erhaltenen Koeffizienten sind in der ersten Spalte der vorstehenden Tabelle zusammengestellt.

In diese Tabelle habe ich neben den nach der oben beschriebenen Methode gewonnenen Zahlen noch drei weitere Gruppen aufgenommen. In der zweiten Spalte findet man Koeffizienten, welche nach der plasmolytischen Transport-Methode erhalten sind. Diese Methode beruht darauf, dass dasselbe Präparat zuerst in eine Salpeterlösung und dann in eine Lösung der zu untersuchenden Substanz getaucht wird. Aus einer eintretenden Veränderung in der Grösse der Protoplaste schliesst man auf Differenz im osmotischen Druck; wenn jene Grösse sich aber gleich bleibt, sind die beiden Lösungen isotonisch. Die dritte Spalte enthält die Zahlen, welche ich nach der Methode der Gewebespannung erhielt, indem ich wachsende Sprossgipfel in vier gleiche Längsstreifen spaltete und untersuchte, in welchen Konzentrationen diese Wasser aufnahmen resp. abgaben. Man sieht solches an zunehmender oder abnehmender Krümmung. Aendert sich diese nicht, so war die äussere Lösung isotonisch. Diese beiden Methoden sind aber viel umständlicher und wurden nur aus botanischen Rücksichten benutzt; sie sollen hier deshalb nicht weiter beschrieben werden. 1)

Die letzte Spalte enthält die isotonischen Koeffizienten, welche von Hamburger bei seinen Untersuchungen über das Verhalten von Blutkörperchen in Lösungen verschiedener osmotischer Kraft bestimmt worden sind. 2) In hyperisotonischen Lösungen setzen die Blutkörperchen sich am Boden des Gefässes ab, in hypisotonischen Konzentrationen tritt der rote Farbstoff aus ihnen heraus, und nur in isotonischen Lösungen erhalten sie sich unverändert und sinken nur äusserst langsam.

Obgleich die angewandten Methoden durchaus verschiedene sind und auf der Anwendung sehr verschiedenartiger lebender Zellen beruhen, so sieht man doch auf den ersten Blick, dass ihre Resultate im wesentlichen übereinstimmen.

In der Tabelle habe ich die einzelnen Stoffe zu kleinen Gruppen zusammengefasst. Es zeigt sich dadurch, dass verwandte chemi-

---

1) Die Beschreibung findet sich in *Opera II*, S. 172 bis 213.

2) H. J. Hamburger, Onderzoek. physiol. Lab. Utrecht, III. Reihe, 9, 30 u. 32.

sche Verbindungen nahezu denselben isotonischen Koeffizienten besitzen.

Dieser Koeffizient ist für die organischen Stoffe, sowie für die Salze der Erdalkalien mit zweibasischen Säuren nahezu = 2 (1.78—2.02). Für die Salze der Alkalien mit einbasischen Säuren nahezu = 3, und mit zweibasischen Säuren nahezu = 4 (3.9—4.11). Die sauren Salze sind den Gruppen nach der in ihnen enthaltenen Anzahl von metallischen Atomen eingeordnet. Die Chloride der Erdalkalien haben einen Koeffizienten zu 4.3 und das neutrale citronensaure Kalium zu 5.

Diese Verhältnisse weisen darauf hin, dass die isotonischen Koeffizienten additiver Natur sind,[1] doch wird sich dieses durch ihre Vergleichung mit den Resultaten der Versuche über das Leitungsvermögen für die Elektrizität noch des Näheren ergeben. Ich brauche darauf also an dieser Stelle nicht einzugehen.

Vergleichung der isotonischen Koeffizienten mit der molekularen Erniedrigung des Gefrierpunktes und der Dampfspannung. Die isotonischen Koeffizienten verschiedener Verbindungen verhalten sich zu einander ungefähr wie die molekularen Gefrierpunktserniedrigungen und wie die molekularen Erniedrigungen der Dampfspannung. Dieser Satz, den ich 1884 aus dem damals vorhandenen Beobachtungsmaterial abgeleitet hatte, ist seitdem durch die ausgedehnten Untersuchungen von Raoult über die Gefrierpunkte und von Tammann über die Dampfspannungen, und durch die Vergleichung der von diesen beiden Forschern erhaltenen Werten mit meinen Zahlen ausführlich bestätigt worden. Es sei mir gestattet, aus Tammanns Zusammenstellung der betreffenden Zahlenreihen das Folgende zu entnehmen[2]:

Stoffe	Isotonische Koeffizienten × 100	Molekulare Erniedrigung	
		des Gefrierpunktes × 10	der Dampfspannung × 1000
$C_3H_8O_3$	178	171	—
$C_6H_{12}O_6$	181	185	—
$C_{12}H_{22}O_{11}$	188	193	—
$C_4H_6O_5$	198	187	178
$C_4H_6O_6$	202	195	188
$C_6H_8O_7$	202	193	197

1) *Opera II,* S. 220.
2) l. c. 171.

Stoffe	Isotonische Koeffizienten × 100	Molekulare Erniedrigung des Gefrierpunktes × 10	Molekulare Erniedrigung der Dampfspannung × 1000
$MgSO_4$	196	192	156
KNO_3	300	308	267
$NaNO_3$	300	337	296
KCl	287	336	313
$NaCl$	305	351	330
NH_4Cl	300	348	313
$KC_2H_3O_2$	300	345	331
$K_2C_2O_4$	393	450	372
K_2SO_4	391	390	351
$K_2C_4H_4O_6$	399	363	388
$MgCl_2$	433	488	513
$CaCl_2$	433	466	517
$K_3C_6H_5O_7$	501	—	499

In der ersten Spalte sind die isotonischen Koeffizienten nach der plasmolytischen Methode eingetragen; nur wo diese fehlen (KCl, $NaCl$, $K_2C_2O_4$, K_2SO_4 und $K_2C_4H_4O_6$), sind die von mir nach den beiden anderen Methoden gewonnenen Zahlen benutzt worden (vgl. S. 524).

Die Uebereinstimmung in den drei Zahlenreihen ist eine sehr genügende, zumal wenn man bedenkt, dass diese bei verschiedenen Temperaturen und Konzentrationen gewonnen worden sind. Somit *besitzen, wie im Anfange dieses Aufsatzes hervorgehoben wurde, Lösungen gleicher osmotischer Kraft auch denselben Gefrierpunkt und dieselbe Spannung des Dampfes.*

Beziehung zwischen dem isotonischen Koeffizienten und dem elektrischen Leitungsvermögen. Arrhenius hat gezeigt, dass die Ausnahmen von van 't Hoffs Gesetz des osmotischen Druckes erklärt werden können durch die Hypothese, dass die Moleküle der betreffenden Substanzen in verdünnter wässeriger Lösung, wenigstens teilweise, dissociiert sind.[1] Nur die Elektrolyte sind einer solchen Dissociation fähig, nur diese bilden die fraglichen Ausnahmen. Nur die dissociierten Moleküle bedingen das elektrische Leitungsvermögen; die übrigen Moleküle derselben Substanz leiten nicht, sie sind nach Arrhenius inaktiv. Man hat also in der Leitfähigkeit ein bequemes und zugleich scharfes Mittel, um die relative Anzahl der dissociierten Moleküle zu bestimmen.

1) Zeitsehrift für physikalische Chemie I, 631. 1877.

Nach demselben Forscher wirken ferner die Jonen, d. h. die einzelnen Teile, in welche die elektrolytischen Moleküle bei ihrer Dissociation zerfallen, in osmotischer Beziehung wie ganze Moleküle. Für Elektrolyte in verdünnter wässeriger Lösung ist also der osmotische Druck nicht der Anzahl der in der Volumeinheit gelösten Moleküle, sondern der Summe der nicht dissociierten Moleküle und der Jonen proportional.

Die isotonischen Koeffizienten sind das Mass des osmotischen Druckes für die Temperaturen (10°—15° C.) und die Konzentrationen (isotonisch mit 0.1—0.2 Aequivalent KNO_3) meiner Versuche. Ihre Einheit entspricht etwa einer Atmosphäre für ein Grammmolekül auf zehn Liter.[1] Es lässt sich somit aus diesen Zahlen unter Annahme der erwähnten Dissociationstheorie der Grad der Dissociation für die namhaft gemachten Versuchsbedingungen in sehr einfacher Weise berechnen. Man braucht sie dazu offenbar nur auf eine andere Einheit, nämlich auf 100 für einen Nichtleiter umzurechnen. Die Zahlen geben dann ohne weiteres die relative Summe der nichtdissociierten Moleküle und der Jonen auf die Gesamtzahl von 100 Molekülen an.

Hat man nun diesen Grad der Dissociation auf beiden Wegen für dieselben Versuchsbedingungen ermittelt, so lässt sich die Richtigkeit des Arrheniusschen Satzes nach den vorhandenen Uebereinstimmungen beurteilen.

Im ersten Bande der Zeitschrift für physikalische Chemie (S. 631) hat Arrhenius diese Vergleichung für eine lange Reihe von Substanzen durchgeführt,, indem er den Grad der Dissociation nach Raoults Versuchen über die Erniedrigung des Gefrierpunktes mit dem elektrischen Leitungsvermögen zusammenstellte. Nach der oben erwiesenen Beziehung zwischen Gefrierpunkt und isotonischem Koeffizient war also zu erwarten, dass auch zwischen letzterem und dem Leitungsvermögen dieselbe Uebereinstimmung obwalten würde.

Ich habe deshalb in der folgenden Tabelle diese Vergleichung ausgeführt. Sie enthält in der ersten Spalte die Konzentration meiner Versuche in Aequivalenten, in der zweiten die Summe der Moleküle und Jonen, in obiger Weise aus meinen Zahlen berechnet. Ich wählte dabei als Einheit das Glycerin, welches den niedrigsten aller von mir bestimmten isotonischen Koeffizienten besitzt. In der dritten Spalte findet man die Summe der Moleküle und Jonen, aus Kohlrauschs Versuchen[2] für dieselbe Konzentration

1) *Opera II*, S. 228.

2) Kohlrausch in Wied. Ann. **36**, 195—196. 1885 Stellt man $m + n = a$, so

berechnet, und zwar nach der von Arrhenius aufgestellten Formel $i = \frac{m + k.n}{m + n}$, in welcher i die Summe der Anzahl nichtdissociierter Moleküle und der Anzahl der Jonen ist, und k die Anzahl von Jonen, in die sich jedes Molekül spaltet. m und n sind den Tabellen von Kohlrausch entnommen, indem n die Zahlen für das molekulare Leitvermögen bei der in Spalte 1 verzeichneten Konzentration, und m die Differenz zwischen diesem und dem maximalen Leitvermögen, bei äusserster Verdünnung, ist.

Die Zahlen für Aepfelsäure, Weinsäure und oxalsaurem Kali sind nicht in dieser Weise berechnet, sondern den Tabellen von Arrhenius (l. c. S. 635) entnommen.

Die vierte Spalte enthält die Differenzen zwischen den aus Kohlrauschs und aus meinen Versuchen berechneten Zahlen; die fünfte Spalte enthält die aus Kohlrauschs Versuchen abgeleitete Anzahl der dissociierten Moleküle. Sie ist, wie die Spalten 2 und 3, auf je 100 Moleküle berechnet.

Stoffe.	Konzentration in Äquival.	Summe der Moleküle und Jonen, berechnet aus dem		Diff.	Anzahl der dissociierten Moleküle
		Isotonischen Koeffizienten	elektrischen Leitvermögen		
I. Nichtleiter.					
$C_3H_8O_3$	—	100	100	—	0
$C_6H_{12}O_6$	—	106	100	—6	0
$C_{12}H_{22}O_{11}$	—	101	100	—1	0
II. Leiter.					
$C_4H_6O_5$	—	111	107	—4	7
$C_4H_6O_6$	—	113	111	—2	11
$MgSO_4$	0.4	110	135	+25	35
KNO_3	0.13	169	180	+11	80
$NaNO_3$	0.13	169	173	+4	73
KCl	0.2	169	184	+15	84
$NaCl$	0.16	171	182	+11	82
NH_4Cl.	0.13	169	185	+16	85
$KC_2H_3O_2$	0.13	169	181	+12	81
$K_2C_2O_4$	—	221	232	+11	66
K_2SO_4	0.2	219	234	+15	67
$MgCl_2$ und $CaCl_2$	0.18	243	246 1)	+3	73

ist a das maximale Leitvermögen, und die obige Formel wird $i = \frac{a + (k-1)n}{a}$, in welcher Form ich sie zur Berechnung anwandte.

1) Hier ist die Zahl für $BaCl_2$ eingesetzt, weil $MgCl_2$ und $CaCl_2$ nicht in die Tabelle von Kohlrausch aufgenommen sind.

Zu dieser Tabelle ist zu bemerken, dass ein etwaiger Fehler in der Bestimmung des isotonischen Koeffizienten für Glycerin sämtliche Zahlen in gleicher Weise afficieren würde. Ebenso, dass, wenn ein Körper mit kleinerem isotonischen Koeffizienten aufgefunden und als Einheit für die Berechnung gewählt worden wäre, die Differenzen in Spalte 4, welche jetzt zumeist etwa 6 bis 7% betragen, sämtlich kleiner ausgefallen sein würden.

Die Uebereinstimmung in den angeführten Zahlenreihen ist eine derartige, dass sie als eine Stütze gelten kann für den Satz, dass der osmotische Druck von der Summe der nicht dissociierten Moleküle und der Jonen bestimmt wird.

Die Abweichung für schwefelsaure Magnesia (+ 25) bedarf einer erneuten Prüfung. Ebenso ist es wünschenswert, die zu wählende Einheit genauer zu ermitteln und die Beobachtungen auf eine Reihe weiterer Verbindungen auszudehnen. Ich beabsichtige, diese Fortsetzung meiner Versuche so bald wie möglich vorzunehmen.

Bestimmung des Molekulargewichts. In derselben Weise, wie die Erniedrigung des Gefrierpunktes und wie das molekulare Leitvermögen kann auch die Ermittelung des osmotischen Druckes benutzt werden für die Bestimmung der Molekulargewichte. Man braucht dazu nur die isotonische Konzentration des fraglichen Körpers und diejenige einer anderen, zu derselben osmotischen Gruppe (vergl. S. 524) gehörigen Verbindung von bekanntem Molekulargewicht zu bestimmen. Denn beide Lösungen werden offenbar in der Volumeinheit ungefähr dieselbe Anzahl gelöster Moleküle enthalten. Die Ausführung der Versuche geschieht dabei genau in der oben beschriebenen Weise.

Ich habe es versucht, in dieser Weise die in den letzten Jahren vielfach besprochene Frage nach dem Molekulargewicht der Raffinose zu entscheiden. Ueber die Zusammensetzung dieser mit Gossypose und Melitose identischen Zuckerart liegen augenblicklich drei Meinungen vor, welche ihren Ausdruck in den folgenden Formeln finden [1]):

	Molekulargewicht	
$C_{12}H_{22}O_{11} + 3\,H_2O$	396	Berthelot und Ritthausen
$C_{18}H_{32}O_{16} + 5\,H_2O$	594	Loiseau und Scheibler
$C_{36}H_{64}O_{32} + 10\,H_2O$	1188	Tollens und Rischbiet.

1) Eine ausführliche Zusammenstellung der einschlägigen Litteratur findet sich in K. Stammers Jahresbericht über die Fortschritte der Zuckerindustrie **25**, 162—202. 1885.

Diese drei Formeln entsprechen derselben elementaren Zusammensetzung der krystallisierten Substanz, aber verschiedenem Gehalt an Krystallwasser. Dieser ist bei der ersten Formel nach älteren Bestimmungen zu 13.64% angenommen, in den beiden letzteren Formeln aber nach sehr genauen Versuchen von Scheibler zu 15.15%. Die Verdoppelung der zweiten Formel durch Tollens und Rischbiet hatte zum Zweck, sowohl dem Natriumderivat ($C_{12}H_{21}NaO_{11}$) als der Ausbeute an Schleimsäure (22—23%) bei der Behandlung mit Salpetersäure Rechnung zu tragen.

Um zwischen diesen Meinungen zu entscheiden, habe ich die osmotische Wirkung der Raffinose mit der des Rohrzuckers verglichen. Ich benutzte dazu die oben beschriebenen Oberhautzellen der *Tradescantia discolor*, und bestimmte also in jedem einzelnen Versuch die mit dem Zellsaft dieser Zellen isotonischen Konzentrationen der beiden Zuckerarten. Für jeden Versuch dienten Präparate, welche demselben Blatt, in unmittelbarer Nähe von einander, entnommen waren. Die Raffinose wurde als Krystalle gelöst und die Konzentration mit Inbegriff des Krystallwassers berechnet; der Rohrzucker wurde in molekularen Konzentrationen angewendet.

In vier Versuchen fand ich die folgenden isotonischen Konzentrationen:

	Rohrzucker Mol.	Raffinose Prozent	Konzentration der Raffinose isotonisch mit 0.1 Mol. Rohrzucker
I	0.19	10.5	5.526 Prozent
II	0.17	10.5	6.176 „
III	0.17	10.0	5.882 „
IV	0.20	12.5	6.250 „
			Im Mittel 5.957 Prozent

Eine Lösung von 5.957% krystallisierter Raffinose ist somit isotonisch mit einer Lösung, welche 0.1 Molekül Rohrzucker im Liter enthält. Sie enthält also selbst gleichfalls nahezu 0.1 Molekül pro Liter. Das Molekulargewicht der Raffinose muss also nicht weit von 595.7 entfernt sein.

Vergleichen wir dieses Resultat mit den oben citierten Molekulargewichten (396, 594, 1188), zwischen denen wir zu entscheiden hatten, so sehen wir, dass die Bestimmung der osmotischen Spannung für diejenige Meinung entscheidet, welche von Loiseau aufgestellt und von Scheibler verteidigt wurde.

Amsterdam, April 1888.

(Zeitschrift für physikalische Chemie II, 6, 1888, S. 415.)

OVER DE ERFELIJKHEID VAN DE ORGANISATIE DER PROTOPLASTEN.

Prof. de Vries heeft in de op 26 Juni 1888 gehouden vergadering der Sectie voor Natuur- en Geneeskunde van het Provinciaal Utrechtsch Genootschap van Kunsten en Wetenschappen een voordracht gehouden „*Over de erfelijkheid van de organisatie der protoplasten.*"

Bij de beschouwingen over de erfelijkheid treedt in den laatsten tijd de cel meer en meer op den voorgrond. Het is daarom van belang om na te gaan, op welke wijze bij de celdeeling en bij de bevruchting de organisatie eener cel van die der moedercel wordt afgeleid. Onderzoekt men deze vraag op plantkundig gebied, en de spreker meende zich uit den aard der zaak tot dit gebied te moeten beperken, zoo ziet men, dat bij de celdeeling de verschillende organen der protoplasten door deeling uit de gelijknamige organen der moedercel ontstaan. Voor de celkernen is deze stelling in de laatste tientallen van jaren door Flemming, Strasburger en anderen boven allen twijfel verheven. Voor de amyloplasten en voor de chlorophylkorrels en kleurstoflichamen, welke slechts veranderde amyloplasten zijn, werd het bewijs door Schmitz, Schimper en Arthur Meijer geleverd. Voor de vacuolen, in wier wanden de spreker eveneens een zelfstandig en met belangrijke functiën belast orgaan der protoplasten ziet, nam men vroeger algemeen aan, dat zij door inwendige differentieering in het protoplasma voortgebracht konden worden. Het bestaan van een eigen, levenden wand, is echter met deze voorstelling in strijd, en de onderzoekingen van Went hebben dan ook geleerd, dat in meristemen en topcellen, die men vroeger voor vacuolenloos hield, deze door eene doelmatige methode van onderzoek steeds kunnen worden aangetoond. Tevens deed deze schrijver zien, dat in jeugdige cellen overal en bijna onophoudelijk deelingen van vacuolen, door in- en doorsnoering plaats vinden, zoodat men zonder bezwaar het onstaan van vacuolen in alle gevallen aan dit proces kan toeschrijven.

Dat ook de buitenlaag en het korrelig protoplasma zich bij de celdeeling deelen, is in al die gevallen onbetwistbaar, waar het

laatstgenoemde proces volgens het oude type van von Mohl (*Cladophora*, *Spirogyra*, enz.) verloopt. Bij de hoogere planten neemt men algemeen aan, dat de celdeeling centrifugaal geschiedt. Doch sints door Went is aangetoond, dat hetgeen men vroeger voor de celplaat, d. i. de nieuwe, binnen in den protoplast gevormde dubbele buitenlaag, hield, slechts een ring is, waarin men geen cellulose-vliesje kan aantoonen, is het duidelijk, dat aan deze voorstelling de vermeende empirische bodem is ontnomen, en laten de bekende feiten evenzeer de voorstelling eener centripetale deeling toe. Spreker wijst er verder op, dat de celdeeling bij de hoogere planten nog slechts zeer onvolledig bekend is, daar men b.v. noch het aandeel der protoplasma-stroompjes daaraan, noch het gedrag der vacuolen, die tusschen de beide jonge kernen inliggen, kent.

Het ontstaan van cellen binnen in andere, dus door zoogenaamde vrije celvorming, acht de spreker evenmin voldoende bewezen. Dat de eicellen door gewone deeling uit de moedercel van den embryozak onstaan, en dus *naast* en niet, zooals men gewoonlijk meent, *in* dezen liggen, meent hij uit afbeeldingen in de werken van Prohaska en Strasburger, tenminste voor bepaalde gevallen, te mogen afleiden. Evenzoo leeren de onderzoekingen van Hegelmaier, dat ook het endosperm door celdeeling, zoogenoemde „Vielzelltheilung", ontstaat. En van het ontstaan der ascosporen kent men, behalve de vermenigvuldiging der kernen door deeling, nagenoeg geen enkele bijzonderheid. Al deze gevallen, waarin men vroeger meende, dat de buitenlaag uit het korrelig protoplasma ontstond, blijken dus bij nadere beschouwing geenszins voldoende onderzocht te zijn, om deze meening te staven, en hetzelfde geldt van de regeneratie-verschijnselen van verwonde of gedeeltelijk uit de cel uitgetreden protoplasten.

Alle bekende feiten zijn dus in overeenstemming met de voorstelling, dat de verschillende organen der protoplasten, voor zooverre zij niet door differentieering uit andere organen ontstaan (b.v. chlorophylkorrels uit amyloplasten) zich slechts door deeling vermenigvuldigen. Elke cel ontvangt dus hare organen door deeling van de overeenkomstige organen der moedercel. De organisatie der protoplasten wordt dus steeds op deze wijze van de eene celgeneratie aan de andere overgeleverd.

Bij de bevruchting moet men tusschen copulatie en eigenlijke bevruchting onderscheiden. Bij de copulatie van twee gelijkwaardige protoplasten ontvangt het nieuwe individu dus alle organen

der protoplasten van beide ouders. Doch alleen de kernen plegen ineen te smelten, en reeds bij de eerste celdeelingen krijgen dus sommige cellen hare organen, alle of ten deele, van den vader, terwijl andere cellen ze aan de moeder ontleenen.

Bij de eigenlijke bevruchting wordt de organisatie der cel uitsluitend van de eicel geërfd, ten minste in morphologischen zin. Want slechts de kernen smelten inéén; de buitenlaag der spermatozoiden gaat verloren, zonder zich met de buitenlaag der eicel te vereenigen, en vacuolen en amyloplasten plegen niet in spermatozoiden voor te komen. Ook van de stuifmeelkorrels dient alleen de kern, volgens Strasburger, voor de bevruchting der eicel.

Uit het feit, dat in bastaarden de eigenschappen van vader en moeder in gelijke mate plegen vertegenwoordigd te zijn, volgt, dat alle organen van de protoplasten van een bastaard, bastaardnatuur moeten bezitten. En wanneer zij nu, morphologisch, uitsluitend afstammen van de gelijknamige organen der eicel, en dus van de moederplant, dan moet er een middel bestaan, waardoor de erfelijke eigenschappen, die bij de bevruchting door de vereeniging der beide kernen vermengd zijn, uit deze kernen op de organen der protoplasten worden overgebracht.

Men moet zich dus voorstellen, dat de celkern is de drager der erfelijke eigenschappen, doch dat deze, om in de functiën van het organisme voor ons zichtbaar te worden, uit de kernen naar de organen der protoplasten, op een of andere wijze worden overgebracht.

De spreker meent, dat men zich dit transport moet voorstellen als te geschieden door stoffelijke deeltjes, die door de stroompjes van het protoplasma vervoerd worden. Deze voorstelling heeft dus eene groote overeenkomst met de provisorische hypothese der Pangenesis van Darwin. Alleen nam Darwin een transport door het geheele organisme aan, en daarenboven het vermogen zijner eenheden, om zich in de kiemcellen op te hoopen, en daar wederom tot de eigenlijke dragers der erfelijke eigenschappen te worden. In de voorstelling, dat de celkernen de dragers der erfelijke eigenschappen zijn, zoude Darwin's Pangenesis dus een indringen der van sommige kernen uitgegane deeltjes in andere kernen moeten aannemen, terwijl volgens den spreker zulk eene voorstelling voor de verklaring der in het plantenrijk waargenomen verschijnselen van erfelijkheid volstrekt onnoodig is.

De deeltjes, die de erfelijke eigenschappen uit de kernen intracellulair overbrengen, mogen dus geenszins met de kiempjes of

„gemmules" van Darwin worden geïdentificeerd. Om deze reden stelt de spreker voor, om aan zijne opvatting den naam van *Intracellulaire Pangenesis* te geven, teneinde zoowel de overeenkomst als het verschil met Darwin's hypothese in den naam uit te drukken.

Eene vergelijking van Darwin's *gemmules*, afgezien van de transporthypothese, met de *physiological units* van Spencer leidde den spreker tot de overtuiging, dat de waarheid aan de zijde van Darwin is. De voorstellingen over de stoffelijke natuur der erfelijkheid, die door Sachs, Weismann en anderen in de laatste jaren zijn gepubliceerd, bleken òf met die van Darwin, òf met die van Spencer in beginsel overeen te komen.

De hypothese, dat de erfelijkheid aan stoffelijke, georganiseerde en zich door deeling vermenigvuldigende deeltjes gebonden is, acht de spreker onafwijsbaar. Aan deze onzichtbare, in de cellen en hare kernen verscholene eenheden, geeft hij den naam van *pangenen.*

(Aanteekeningen van het verhandelde in de Sectie voor Natuur- en Geneeskunde ter gelegenheid van de algemeene vergadering van het Provinciaal Utrechtsch Genootschap van Kunsten en Wetenschappen gehouden den 26 Juni 1888, blz. 6.)

ISOTONISCHE KOEFFIZIENTEN EINIGER SALZE.

Die mit lebenden Membranen ermittelten Konzentrationen der Lösungen verschiedener Substanzen mit gleichem osmotischen Druck lassen sich nach der Hypothese von Arrhenius benutzen zur Berechnung der Summe von Jonen und nicht dissociierten Molekülen, welche auf je 100 in Lösung gebrachte Moleküle in den betreffenden Flüssigkeiten thatsächlich vorhanden sein sollen. 1)

Die Vergleichung der in dieser Weise gefundenen Zahlen mit den aus den elektrischen Versuchen abgeleiteten entsprechenden Werten zeigt im grossen und ganzen eine sehr befriedigende Uebereinstimmung, wie die auf S. 529 der *Opera II* aufgeführte Tabelle lehrt.

Als Einheit zur Berechnung dieser Tabelle wurde damals das Glycerin angenommen. Es war aber von Interesse, wie schon a. a. O. bemerkt wurde, eine andere Einheit zu wählen. Zu empfehlen war die Wahl eines Körpers, dessen Gefrierpunktserniedrigung der Konzentration möglichst genau proportional war. Unter den dieser Bedingung genügenden Verbindungen eignete sich für plasmolytische Versuche der Harnstoff am besten. Ich habe deshalb zunächst den isotonischen Koeffizienten dieser Substanz bestimmt, und diesen der Umrechnung der fraglichen Tabelle zu Grunde gelegt.

Die grösste Abweichung zeigte in meiner Tabelle die schwefelsaure Magnesia. Ich habe deshalb eine erneute Prüfung dieses Salzes vorgenommen. Ferner habe ich noch für einige weitere Salze die Bestimmung des isotonischen Koeffizienten mit grösster Sorgfalt wiederholt und einige neue Verbindungen in den Bereich dieser Untersuchung aufgenommen. Die Wahl dieser Körper wurde bestimmt durch den Wunsch, einen weiteren Beitrag zur Begründung des van 't Hoff-Arrheniusschen Satzes zu liefern.

Die Substanzen zu meiner Untersuchung erhielt ich durch die Güte des Herrn Prof. van 't Hoff, und zwar teils in fester Form (Harnstoff, $MgSO_4$, $Fe(CN)_6K_4$) teils in Lösung ($^1/_3$-normal $CaCl_2$, $MgCl_2$, $SrCl_2$, $Ca(NO_3)_2$; $^1/_4$-normal KCl, LiCl und NH_4Cl). Den Harnstoff löste ich zu 0.45, das $MgSO_4$ zu 0.3, das Ferrocyan-

---

1) *Opera II*, S. 513.

kalium zu 0.15 Grammmolekül pro Liter auf. Aus diesen Lösungen wurden dann für jeden einzelnen Versuch die erforderlichen Konzentrationen durch entsprechende Verdünnung mit destilliertem Wasser hergestellt.

Die Versuche wurden genau in der *Opera II*, S.522 beschriebenen Weise ausgeführt, und zwar dienten beim Harnstoff sowohl die *Begonia manicata* als die *Tradescantia discolor*, bei allen übrigen nur die letztere Pflanze, als Indikator.

Indem ich wegen der Einzelheiten auf die zitierte Beschreibung verweise, möge zur Erklärung der Tabellen folgendes erwähnt werden. In jedem Versuche wurde für dasselbe Gewebe die mit dem Zellsafte isotonische Konzentration des Kalisalpeters und der zu untersuchenden Verbindung aufgesucht. Denn diese beiden Konzentrationen müssen dieselbe osmotische Spannkraft haben. Um sie zu finden, wurden mikroskopische Präparate aus dem Gewebe in Lösungen gebracht, welche die zu erwartende Grenze umschlossen. Ich benützte dazu elf Salpeterlösungen von 0.10 bis 0.20 Grammmolekül pro Liter, welche unter sich um 0.01 Molekül differierten. Die Lösungen der zu prüfenden Substanz wurden nach vorläufiger Berechnung mit diesen annähernd isotonisch gewählt. In diese Lösungen kamen die Schnitte; nach mehrstündigem Aufenthalt, als osmotisches Gleichgewicht in ihnen eingetreten war, wurden sie unter dem Mikroskope durchmustert. War die osmotische Spannkraft der äusseren Lösung grösser als die des Zellsaftes, so war der Inhalt in allen Zellen kontrahiert. Solches ist in den Tabellen durch *p* (Plasmolyse) bezeichnet. War die äussere Lösung osmotisch schwächer als der Zellsaft, so waren die Zellen unverändert geblieben; es bedeutet somit *n* nichtplasmolysiert. Bestand Gleichgewicht zwischen der mittleren Kraft der Zellsäfte und der eingedrungenen Flüssigkeit, so war etwa die Hälfte der Zellen plasmolysiert, die andere nicht (*hp*).

In die Tabellen sind nun selbstverständlich nicht sämtliche angestellte Einzelversuche eingetragen, sondern nur jene, welche die Grenze am nächsten umgaben. Aus diesen Beobachtungen ist dann in den mit IK überschriebenen Spalten die mit dem Zellsafte isotonische Konzentration berechnet. Das Verhältnis zwischen diesen Werten für Salpeter und dem untersuchten Körper, auf Moleküle berechnet, findet man in der letzten Spalte einer jeden Tabelle.

Aus diesen, jedesmal in vier Versuchen bestimmten Verhältnissen habe ich dann das Mittel abgeleitet. Und da meine Koeffizien-

ten für $KNO_3 = 3$ berechnet sind, so ist der dreifache Wert des mittleren Verhältnisses der gesuchte isotonische Koeffizient.

Zu bemerken ist noch, dass für jeden Versuch die Schnitte aus einem anderen Blatte genommen wurden.

I. *Harnstoff.*

Als Indikator diente für die Versuche B. I—III *Begonia manicata*, für T. I—III *Tradescantia discolor.* Die nach 1 oder 2 Stunden angestellten Beobachtungen wurden bei B. I—III und T. II—III nach 4 Stunden wiederholt; die gesuchte Grenze hatte sich während dieser Zeit nicht verschoben. 1)

	Dauer in Stunden	Mol. Harnstoff									Kalisalpeter							Verhältnis
		0.195	0.210	0.222	0.234	0.250	0.263	0.277	0.292	I K	0.11	0.12	0.13	0.14	0.15	0.16	I K	
B. I.	1—4			n	hp	p				0.234		n	n	p	p		0.135	0.577
B. II.	1—4					n	hp	hp	p	0.270				n	hp	p	0.15	0.556
B. III.	1—4				n	n	p	p		0.2565			n	hp	p		0.14	0.544
T. I.	1	n	hp	p						0.210	n	hp	p				0.12	0.571

	Dauer in Stunden	Mol. Harnstoff						Kalisalpeter						Verhältnis
		0.285	0.300	0.315	0.330	0.345	I K	0.16	0.17	0.18	0.19	0.20	I K	
T. II.	2—4			n	p	p	0.3225		n	n	p	p	0.185	0.574
T. III.	2—4	n	hp	p	p		0.300	n	n	p	p		0.175	0.583

Im Mittel ist demnach für Harnstoff:

Das Verhältnis der isotonischen Konzentrationen 0.5675

Der isotonische Koeffizient 1.70

II. *Schwefelsaure Magnesia.*

Als Indikator diente bei diesem und allen folgenden Salzen nur *Tradescantia discolor.*

	Dauer in Stunden	Äq. Schwefels. Magnesia									Kalisalpeter								Verhältnis × 2
		0.27	0.30	0.33	0.36	0.39	0.42	0.45	0.48	I K	0.10	0.11	0.12	0.13	0.14	0.15	0.16	I K	
I.	20					n	n	p	p	0.435					n	hp	p	0.15	0.689
II.	5			n	n	p	p			0.375			n	n	p	p		0.135	0.720
III.	3½	n	n	p	p	p				0.315	n	n	hp	hp	p			0.125	0.793
IV.	4			n	n	hp	p			0.390		n	n	p	p	p		0.125	0.641

1) Ueber diese Versuche vergleiche man meinen demnächst erscheinenden Aufsatz: Ueber die Permeabilität der Protoplaste für Ureum. *Opera II* S. 553.

Im Mittel ist demnach für schwefelsaure Magnesia:
Das Verhältnis der isotonischen Konzentrationen 0.711
Der isotonische Koeffizient 2.13

III. *Chlorkalium.*

	Dauer in Stunden	Äq. Chlorkalium									Kalisalpeter								Verhältnis
		0.11	0.12	0.13	0.14	0.15	0.16	0.17	0.18	I K	0.12	0.13	0.14	0.15	0.16	0.17	0.18	I K	
I.	4		n	hp	p	p				0.13	n	n	p	p				0.135	1.04
II.	4		n	n	p	p				0.135	n	n	p	p				0.135	1.00
III.	4					n	n	p	p	0.165			n	n	n	hp	p	0.17	1.03
IV.	4	n	n	p	p					0.125	n	hp	p					0.13	1.04

Im Mittel ist demnach für Chlorkalium:
Das Verhältnis der isotonischen Konzentrationen 1.027
Der isotonische Koeffizient 3.08

IV. *Chlorlithium.*

	Dauer in Stunden	Äq. Chlorlithium						Kalisalpeter						Verhältnis
		0.11	0.12	0.13	0.14	0.15	I K	0.12	0.13	0.14	0.15	0.16	I K	
I.	4	n	n	n	p	p	0.135			n	hp	p	0.15	1.11
II.	4	n	hp	p	p		0.12	n	hp	p	p		0.13	1.08
III.	3	n	n	p	p		0.125	n	n	p	p		0.135	1.08
IV.	3		n	n	p	p	0.135		n	n	p	p	0.145	1.07

Im Mittel ist demnach für Chlorlithium:
Das Verhältnis der isotonischen Konzentrationen 1.087
Der isotonische Koeffizient 3.26

V. *Chlorammonium.*

	Dauer in Stunden	Äq. Chlorammonium								Kalisalpeter									Verhältnis
		0.12	0.13	0.14	0.15	0.16	0.17	0.18	I K	0.12	0.13	0.14	0.15	0.16	0.17	0.18	0.19	I K	
I.	20				n	hp	p		0.16				n	n	p	p		0.165	1.03
II.	4				n	n	p	p	0.165				n	n	n	p	p	0.175	1.06
III.	4	n	n	p	p	p			0.135	n	n	p	p	p				0.135	1.00
IV.	4	n	hp	p	p	p			0.13	n	n	p	p	p				0.135	1.04

Im Mittel ist demnach für Chlorammonium:
Das Verhältnis der isotonischen Konzentrationen 1.032
Der isotonische Koeffizient 3.10

VI. *Chlorcalcium.*

	Dauer in Stunden	Äq. Chlorcalcium							Kalisalpeter							Verhältnis × 2
		0.16	0.17	0.18	0.19	0.20	0.21	I K	0.12	0.13	0.14	0.15	0.16	0.17	I K	
I.	22			n	n	p	p	0.195				n	hp	p	0.16	1.641
II.	22		n	hp	p	p		0.18		n	hp	p	p		0.14	1.556
III.	4	n	n	p	p			0.175	n	n	p	p			0.135	1.543
IV.	4		n	hp	hp	p		0.185		n	n	p	p		0.145	1.568

Im Mittel ist demnach für Chlorcalcium:
Das Verhältnis der isotonischen Konzentrationen 1.577
Der isotonische Koeffizient 4.73

VII. *Chlormagnesium.*

	Dauer in Stunden	Äq. Chlormagnesium						Kalisalpeter							Verhältnis × 2
		0.17	0.18	0.19	0.20	0.21	I K	0.12	0.13	0.14	0.15	0.16	0.17	I K	
I.	22	n	hp	p			0.18			n	hp	p		0.15	1.67
II.	22			n	hp	p	0.20				n	hp	p	0.16	1.60
III.	4	n	n	p	p		0.185	n	n	p	p			0.135	1.46
IV.	4			n	p	p	0.195			n	n	p		0.155	1.59

Im Mittel ist demnach für Chlormagnesium:
Das Verhältnis der isotonischen Konzentrationen 1.58
Der isotonische Koeffizient 4.74

VII. *Chlorstrontium.*

	Dauer in Stunden	Äq. Chlorstrontium						Kalisalpeter					Verhältnis × 2
		0.16	0.17	0.18	0.19	0.20	I K	0.12	0.13	0.14	0.15	I K	
I.	20		n	n	p	p	0.185	n	n	p	p	0.135	1.459
II.	20	n	hp	p	p		0.17	n	hp	hp	p	0.135	1.588
III.	4	n	n	p	p	p	0.175	n	n	p	p	0.135	1.543
IV.	4		n	n	p	p	0.185		n	hp	p	0.14	1.513

Im Mittel ist demnach für Chlorstrontium:
Das Verhältnis der isotonischen Konzentrationen 1.526
Der isotonische Koeffizient 4.58

IX. *Salpetersaures Calcium.*

	Dauer in Stunden	Äq. Salpetersaures Calcium							Kalisalpeter							Verhältnis × 2
		0.16	0.17	0.18	0.19	0.20	0.21	I K	0.11	0.12	0.13	0.14	0.15	0.16	I K	
I.	3	n	n	p				0.175	n	hp	p				0.12	1.371
II.	3	n	hp	hp	p			0.175	n	hp	p				0.12	1.371
III.	2			n	hp	p	p	0.190			n	hp	p	p	0.14	1.474
IV.	2		n	n	p	p		0.185		n	hp	p	p		0.13	1.406

Im Mittel ist demnach für salpetersaures Calcium:
Das Verhältnis der isonischen Konzentrationen 0.1406
Der isotonische Koeffizient 4.22

X. *Ferrocyankalium.*

	Dauer in Stunden	Mol. Ferrocyankalium								Kalisalpeter						Verhältnis
		0.075	0.080	0.085	0.090	0.095	0.100	0.105	I K	0.14	0.15	0.16	0.17	0.18	I K	
I.	4					n	hp	p	0.100	n	n	p	p	p	0.155	1.55
II.	4		n	n	p	p	p		0.0875	n	n	hp	p		0.16	1.83
III.	4	n	hp	p	p				0.080	n	p	p			0.145	1.81
IV.	4		n	n	hp	p	p		0.090		n	hp	hp	p	0.165	1.83

Im Mittel ist demnach für Ferrocyankalium:
Das Verhältnis der isotonischen Konzentrationen 1.755
Der isotonische Koeffizient 5.26

Ich fasse jetzt die durch die mitgeteilten Versuche bestimmten isotonischen Koeffizienten in eine kleine Tabelle zusammen, und stelle neben sie die Summen von Jonen und nichtdissociierten Molekülen auf je 100 aufgelöste Moleküle, welche aus diesen Zahlen durch Division mit dem isotonischen Koeffizienten des Harnstoffs (1.70) und Multiplikation mit 100 erhalten werden. Diese Zahlen gelten für die in der ersten Spalte angegebenen Konzentrationen.

	Konzentration	Isotonischer Koeffizient	Summe d. Jonen und der nicht dissociierten Moleküle
Harnstoff	0.26 Mol.	1.70	100
$Mg\,SO_4$	0.38 Aq.	2.13	125
$K\,Cl$	0.14 „	3.08	181
$Li\,Cl$	0.13 „	3.26	192
$N\,H_4\,Cl$	0.148 „	3.10	182
$Ca\,Cl_2$	0.184 „	4.73	278
$Mg\,Cl_2$	0.19 „	4.74	279
$Sr\,Cl_2$	0.18 „	4.58	269
$Ca\,(N\,O_3)_2$	0.18 „	4.22	248
$Fe\,(C\,N_6)\,K_4$	0.089 Mol.	5.26	309

Schliesslich sei es mir gestattet, die anfangs erwähnte Tabelle 1), wenigstens soweit sie Leiter enthält, auf Grund der neugefundenen Zahlen umgerechnet, zu reproduzieren. Die Uebereinstimmung ist namentlich wegen der Wahl des Harnstoffs (1.70) als Einheit anstatt des Glycerins (1.78) jetzt im allgemeinen eine viel grössere geworden. Dagegen bilden nun die Chloride der Erdalkalien eine der Erklärung bedürftige Ausnahme.

Leiter	Konzentration in Äquivalenten	Summe der Moleküle und Jonen, berechnet aus dem isotonischen Koeffizienten	Summe der Moleküle und Jonen, berechnet aus dem elektrischen Leitvermögen	Differenz
$C_4\,H_6\,O_5$	—	111	107	— 4
$C_4\,H_6\,O_6$	—	119	111	— 8
$Mg\,S\,O_4$	0.38	125	135	+ 10
$K\,N\,O_3$	0.13	176	180	+ 4
$Na\,N\,O_3$	0.13	176	173	— 3
$K\,Cl$	0.14	181	187	+ 6
$Na\,Cl$	0.16	179	182	+ 3
$N\,H_4\,Cl$	0.15	182	185	+ 3
$Li\,Cl$	0.13	192	179	— 13
$K\,C_2\,H_3\,O_2$	0.13	176	181	+ 5
$K_2\,C_2\,O_4$	—	231	232	+ 1
$K_2\,S\,O_4$	0.2	230	234	+ 4
$Ca\,Cl_2$	0.184	278	} 246 2)	— 32
$Mg\,Cl_2$	0.19	279	} 246 2)	— 33
$Sr\,Cl_2$	0.18	269	} 246 2)	— 24

1) *Opera II*, S. 529.
2) Für $Ba\,Cl_2$; vgl. l. c.

(Zeitschrift für physikalische Chemie III, 2, 1889, S. 103.)

UEBER DIE CONTRACTION DER CHLOROPHYLL-BÄNDER BEI SPIROGYRA.

(Mit einer Tafel.)

Eingegangen am 15. Januar 1889.

Im Winter findet man häufig, auch in üppig wachsenden Rasen von *Spirogyra*, einzelne Fäden, welche Zellen mit mehr oder weniger contrahirten Chlorophyllbändern aufweisen. Ich beobachtete solche Zellen im hiesigen Botanischen Garten seit mehreren Jahren, und habe in diesem Winter die dabei auftretenden Erscheinungen möglichst vollständig verfolgt.

Der ganze Process beruht im Wesentlichen in einer Verkürzung der Spiralbänder. Er ist in zweifacher Hinsicht von Interesse. Erstens weil die Bänder sich auf weniger als den dritten Theil ihrer Länge zusammenziehen können, ohne dass gleichzeitig die übrigen Organe des Protoplasten in ihren Functionen merklich gestört werden. Zweitens wegen der Rolle, welche die Wand der Vacuolen bei dieser Verkürzung spielt.

In letzterer Hinsicht ist zu bemerken, dass diese Wand einen hohlen Cylinder darstellt, um welchen die Spiralbänder gewunden sind. Wenn nun die Contraction jedes einzelnen Bandes an einer oder an beiden Enden anfängt, werden die sich verkürzenden Theile sich einfach verschieben können, dabei der durch die Lage des Bandes auf der erwähnten Cylinder-Oberfläche vorgeschriebenen Bahn folgend. Wenn aber in einem mehrfach gewundenen Bande die mittleren Windungen sich verkürzen, während die äusseren ihre Lage unverändert beibehalten, wird selbstverständlich die cylindrische Wand der Vacuole eingeschnürt werden müssen. Der erstere Fall wird offenbar vorwiegend bei wenig gewundenen Chlorophyllbändern vorherrschen, z. B. bei den mehr oder weniger orthospiren Zellen von *Spirogyra nitida*. Den zweiten Fall aber werden wir am ersten bei Zellen mit zahlreichen Windungen erwarten, wie z. B. bei *S. communis*. Er ist für letztere und verwandte Arten von Pringsheim, Nägeli und Anderen vielfach gelegentlich abgebildet worden.

Ich betrachte zunächst die Fälle, in denen die Verkürzung der

Spiralbänder keine Einschnürung des Tonoplasten (der Vacuolenwand) herbeiführt.

Die Contraction der Chlorophyllbänder fängt in der Regel mit der Einziehung jener Ausstülpungen an, welche den zierlich gezackten Rand der Bänder darstellen, und welche namentlich bei schwacher Beleuchtung so schön ausgebildet sind. Auf Tafel I sieht man in Figur 1 *A* das Ende einer normalen Zelle, und daneben in Figur 1 *B* die Spitzen der einfacher gebauten Chlorophyllbänder am Anfange der Contraction.

Die Verkürzung fängt in der Regel nicht an allen Stellen desselben Bandes gleichzeitig an. Bänder mit verkürzten und unverkürzten Windungen sind nicht gerade selten. Somit findet man auch gar häufig Bänder, welche an dem einen Ende noch gezackt, am anderen aber glattrandig sind. Auch hält der Verlust der Zackungen nicht gleichen Schritt mit der Zusammenziehung, und findet man bisweilen die Zackungen noch an den sich contrahirenden Theilen.

Seitliche Verschiebungen begleiten nicht selten die Contraction. Und zwar zumeist in Zellen mit mehreren, einander parallelen Bändern. Diese liegen ursprünglich in nahezu gleicher gegenseitiger Entfernung. Der Raum zwischen zwei benachbarten Bändern nimmt dann an Breite zu, während die übrigen Zwischenstreifen in entsprechender Weise schmäler werden. In Fig. 2 ist es der Zwischenraum zwischen den Bändern *a* und *b*, der sich am meisten verbreitert. Die seitliche Verschiebung führt meist bald zu einem Verkleben der Bänder in der Aequatorialgegend der Zelle; hier häuft sich die grüne Masse um den Kern herum an, während die einzelnen halben Bänder von dort aus nach allen Richtungen ausstrahlen. In Fig. 3 liegt dieser verklebte Theil auf der linken Seite in der Mitte, und verdeckt den Kern; die rechte Hälfte der Zelle ist nahezu von Chlorophyll entblösst. In derartigen Zellen können sich nun die Bänder allmählich so stark verkürzen, dass die Strahlen vom centralen Theile völlig eingezogen werden, und dass sämmtliches grüne Plasma in der Aequatorialgegend zu einem grossen Klumpen angehäuft wird.

In Zellen mit längeren Bändern führt die seitliche Verschiebung häufig zu einem mehr oder weniger vollständigen Verschmelzen der Chlorophyllkörper zu einem breiteren Bande. Dieser Process ist in den Zellen Fig. 8 und 19 deutlich in seinen Anfängen zu sehen. In der in Fig. 4 abgebildeten Zelle ist diese Vereinigung in der oberen Hälfte, unter starker Contraction, vollzogen worden.

In der unteren Hälfte ist solches nur theilweise der Fall, und sind zwei Bänder dazu durch ihre feste Verklebung am Ende der Zelle in ihrer Verkürzung gehindert. Man sieht, wie sie sich dabei zwischen dem festgeklebten Ende und dem übrigen stärkeführenden Theil zu dünnen Strängen ausgezogen haben. Dieses Festkleben und das dadurch verursachte Ausziehen ist in solchen Zellen keineswegs eine seltene Erscheinung. Erwärmt man solche Zellen vorsichtig unter dem Mikroskop, ohne sie zu tödten, so lösen oft die Enden sich los, und man beobachtet nun eine rasche Contraction des befreiten Theiles.

Nicht selten kann man, im Anfange des ganzen Processes, noch die Bahnen beobachten, auf denen die Enden der Bänder sich zurückgezogen haben. Diese Bahnen sind dann durch feine Plasmakörner gezeichnet, welche anscheinend die Fortsetzung der betreffenden Bänder bilden (Fig. 5).

In orthospiren Zellen fehlte die seitliche Verschiebung bei der Contraction nicht selten völlig. Die Bänder standen dann, z. B. bei *S. nitida*, nachdem sie sich auf weniger als ein Viertel ihrer ursprünglichen Länge verkürzt hatten, als gerade Stäbchen im Umkreise der aequatorialen Gegend der Zelle. Die Stäbchen waren sämmtlich der Achse der Zelle parallel geblieben und standen in gleichen gegenseitigen Entfernungen.

Eine besondere Form der Contraction ist für *Spirogyra nitida* in Fig. 6, und für *S. communis* in Fig. 9 *A* und *B* dargestellt. Sie ist in beiden Arten nicht gerade selten. Die Bänder haben sich in einzelne Stücke gespalten, welche durch farblose Fäden verbunden sind. Die Zahl der Stücke wechselt nicht nur mit der Länge des Bandes, sondern oft auch dadurch, dass einzelne Theile sich contrahiren, ohne in Stücke zu zerfallen. So sieht man z. B. in der Zelle Fig. 9 *B* die Endpartien länger als die mittleren, und in einer gleich grossen Zelle derselben Art bestand das ebenso stark contrahirte Band aus nur einem kürzeren zwischen drei längeren grünen Theilen. Zu bemerken ist noch, dass in diesem Falle (*S. communis*, Fig. 9) die Contraction des Chlorophyllbandes wohl nicht ohne Ein- und Durchschnürung der Vacuole stattgefunden hat.

Wir kommen jetzt zu unserer zweiten Gruppe von Fällen, in denen die Contraction der Chlorophyllbänder Einschnürungen des Tonoplasten verursacht. Die Figuren 10—15 und 19 vergegenwärtigen uns diese Erscheinung; die erstere für *S. communis*, die letztere für *S. nitida*. Den einfachsten Fall stellt Fig. 10 dar. Hier

ist nur eine Windung contrahirt, die beiden seitlichen haben ihre Lage unverrückt beibehalten. Dass die Verkürzung nicht ohne Einschnürung des Tonoplasten hat stattfinden können, ist ohne Weiteres klar. Da aber die Vacuole nicht an Volumen verliert, und hinter dem Bande nicht etwa ein leerer Raum entstehen kann, ist der Tonoplast, der als eine Falte vom Bande aufgenommen wurde, hinter diesem zu einer dünnen, aber doppelten Platte zusammengedrückt worden. Man sieht diese Falte in der Figur als eine feine, sich dem einen Rande des Chlorophyllbandes ansetzende Linie. Verändert man die Einstellung des Mikroskopes, so überzeugt man sich leicht, dass diese Linie wirklich der optische Durchschnitt einer Platte ist. Am Rande der Zelle geht die Falte beiderseits in den dort unsichtbaren Theil des Tonoplasten über, in der Ecke liegt eine kleine Anhäufung von Körnerplasma, welche man leicht im Umkreise der Zelle den Rand der Falte entlang verfolgen kann. In anderen Fällen lag die Zelle derart, dass die contrahirte Windung im Bilde nicht seitlich, sondern im unteren Theil der Zelle lag; ich sah dann die Platte quer durch die ganze Zelle hindurchgehen.

In Fig. 11 ist eine Zelle mit zwei contrahirten Windungen abgebildet. Beide haben den Tonoplasten in derselben Weise eingeschnürt, wie die eine Windung in Fig. 10. Dasselbe gilt, wenn, wie in längeren Zellen nicht selten vorkommt, drei und mehr Windungen sich contrahiren. Solche Einstülpungen des Tonoplasten habe ich bei *S. communis* häufig beobachtet.

Wie beim Verschmelzen zweier getrennter Vacuolen die letzte Trennungswand sich öffnet, um bald darauf vom übrigen Theile des Tonoplasten aufgenommen und unsichtbar zu werden, so können auch unsere Falten wieder verschwinden. Man sieht dieses in Fig. 12, wo von den drei contrahirten Windungen nur noch eine ihre Falte besitzt. Dass aber die beiden anderen auch eine solche besessen haben, sieht man an den ihnen entsprechenden Anhäufungen von Körnerplasma am gegenüberliegenden Rande. Wenn schliesslich sämmtliche Falten eingerissen sind, so liegt das Band, mit engen Windungen, auf der einen Seite der Vacuole, wie z. B. in Fig. 9 *A* und *B*, wo die Windungen gänzlich verschwunden sind.

Wenn man *Spirogyra* in eine Lösung von 10 pCt. Salpeter bringt, so pflegt in vielen Zellen das äussere Plasma ohne wesentliche Contraction zu sterben, während die Vacuolen sich zu Blasen zusammenziehen, welche sich schliesslich völlig von den übrigen Theilen des Protoplasten isoliren. Solcher Blasen ent-

hält jede Zelle meist zwei, oft mehrere, selten nur eine (Fig. 16 und 17). Es war nun wichtig, durch direkte Beobachtung die Identität unserer Tonoplasten-Falten und der Wand dieser Blasen festzustellen. Man kann dieses in einfacher Weise erreichen, wenn man Zellen in dem in Fig. 10—12 abgebildeten Zustande mit dem genannten Reagens behandelt.

Als Beispiel wähle ich die in Fig. 19 *A* dargestellte Zelle von *Spirogyra nitida.* Sie bildete einen Theil eines Fadens, welcher in zahlreichen Zellen je eine bis zwei durch Einschnürung entstandene Falten des Tonoplasten aufwies. Die abgebildete Zelle hatte vier Chlorophyllbänder, deren mittlere Windungen stark contrahirt waren, während die äusseren sich nur wenig verkürzt hatten. In Folge dessen war in der aequatorialen Ebene der Zelle der Tonoplast eingeschnürt, und eine Falte mit der Anhäufung von Körnerplasma an ihrem Rande sichtbar (Fig. 19 *A a*). Nachdem die Falte bei verschiedenen Einstellungen untersucht, und die Körneranhäufung im Umkreise soweit wie möglich verfolgt war, wurde die Zelle gezeichnet. Darauf wurde eine Salpeterlösung von 20 pCt. zugesetzt, während ich genau auf die Falte achtete. Bald darauf sah ich diese sich spalten, erst am Umkreise der Zelle (Fig. 19 *B*), dann bis zum Chlorophyllkörper. Allmählich entfernten sich die beiden Hälften von einander (Fig. 19 *C* und *D*). Ich sah dabei, wie sie einen Theil der sich zusammenziehenden Zellsaftblasen bildeten. Die ganze Erscheinung verlief unter meinen Augen, bis die Blasen sich zu den üblichen Kugeln abgerundet hatten (Fig. 19 *E*). Auch in den übrigen, vorher markiren Nachbarzellen hatte sich der Vorgang inzwischen in derselben Weise vollzogen. Die ursprüngliche Lage der Falte war an der Körneranhäufung im Umkreise der Zelle zu erkennen (Fig. 19 *Ea*).

Die Falte spaltet sich somit in zwei Platten, ohne dabei irgend etwas zu hinterlassen. Sie bestand also offenbar nur aus der doppelten Lage des eingeschnürten Tonoplasten. Dieser in normaler Lage in der lebendigen Zelle unsichtbare Theil ist in diesem Zustande also leicht wahrnehmbar.

Wir kehren jetzt zu *Spirogyra communis* zurück. Wir lernten in Fig. 10—12 den Fall kennen, dass jede Chlorophyllwindung nur eine Falte des Tonoplasten bedingt. Gar oft ist dem aber nicht so. Das Band hebt diese Membran bei seiner Verkürzung oft auf seinen beiden Seiten auf, und es entsteht auf der Aussenseite des Bandes ein Raum (Fig. 13 u. 14). Dieser Raum wird dann durch

eine Ausstülpung der Zellsaftblase erfüllt, welche von einer beliebigen Stelle ausgehend, sich zwischen die beiden Platten einschiebt. Dabei werden diese wieder verdoppelt, und der Raum, bei seiner Entstehung, mit Zellsaft erfüllt. Solches muss offenbar der Fall sein, da sonst das Volumen dieses Saftes abnehmen müsste. In Fig. 13 habe ich an drei Stellen diese Platten im optischen Durchschnitt dargestellt, in Fig. 14 aber an einer halben Windung in räumlicher Lage, wie man sie bei verändernder Einstellung des Mikroskopes beobachtet.

Der geschilderte Vorgang giebt leicht zu einer Abschnürung der zwischen die beiden Platten eingedrungenen Theile der ursprünglichen Vacuole Veranlassung. Namentlich, wenn die einmal gebildeten Falten nicht wieder verloren gehen. Geht dann die Verkürzung soweit, dass die contrahirten Windungen völlig verschwinden, so kann die ursprüngliche Vacuole in eine Anzahl kleinerer zerlegt werden.

Einen solchen Fall habe ich in Fig. 15 abgebildet. In einer langen, zweispiraligen Zelle von *Spirogyra communis* hatten sich die Chlorophyllbänder an einem Ende zu geraden Linien contrahirt, während sie im übrigen Theile ihre normalen Windungen beibehielten. Im letzteren Abschnitt lag nur eine centrale Vacuole von gewöhnlichem Durchmesser; im ersteren aber sah ich einige Vacuolen, welche zwar die Breite der Zelle hatten, aber etwas weniger hoch als breit waren. Eine solche ist bei *d* im optischen Durchschnitt dargestellt. In den zwischen ihnen übrig bleibenden Ecken war der Raum in eine Anzahl kleiner Kammern getheilt, welche der Zelle in der Oberflächen-Ansicht das bei *u* abgebildete Ansehen gaben. Offenbar waren die grossen Vacuolen die Räume, welche, wie z. B. *o* in Fig. 13, nicht von den sich contrahirenden Bändern durchlaufen waren, während die kleineren den hinter den Windungen gebildeten Räumen (*p*, *p* Fig. 13) entsprachen.

Die Aehnlichkeit unseres Bildes (Fig. 15) mit dem bekannten schaumigen Zustand des Protoplasma fällt sofort in die Augen, und die Analogie beider Erscheinungen dürfte einleuchtend sein.

Merkwürdige Fälle beobachtet man auch, wenn sich die in der Mehrzahl vorhandenen Chlorophyllbänder von *Spirogyra nitida* wie zu einem eng gewundenen Seile contrahiren. Sie drücken dann einen oder mehrere Theile der Zellsaftblase zwischen ihren Windungen in den frei werdenden Raum hinaus. Durch zehnprocentige Salpeterlösung überzeugt man sich dann leicht, dass die Vacuole theils innerhalb, theils neben den Windungen liegt. In Fig. 17

waren die Chlorophyllbänder durch das Reagens in ihrer Lage nicht geändert, die Vacuole aber zu drei Blasen zusammen gezogen. Doppeltchromsaures Kalium und andere Reagentien auf Gerbstoff weisen die Anwesenheit dieser Verbindung jetzt auch ausserhalb der Chlorophyllbänder nach. So z. B. in der in Fig. 18 abgebildeten Zelle bei *b*. Gerbstoff aber findet sich bei *Spirogyra* nur in den Vacuolen. [1])

Wir kommen nun zu dem dritten Theile unserer Darstellung. Nachdem die Contraction der Chlorophyllbänder und ihre Folgen beschrieben worden sind, wollen wir einen Blick auf die übrigen Organe der Protoplaste lenken.

Diese zeigen während der geschilderten Vorgänge keine irgendwie merklichen Veränderungen. Wenigstens gelang es mir bis jetzt nicht, solche aufzufinden. Ich folgere daraus, dass sie keine Störungen erleiden. Und dieses ist deshalb wichtig, weil die Contraction der Chlorophyllbänder offenbar kein normaler Vorgang ist, und mancher Leser leicht geneigt sein könnte die betreffenden Zellen als sterbende zu betrachten.

Die Kerne sind auch bei sehr starker Contraction des Chlorophylls zumeist noch unverändert (Fig. 2 u. 9 *B*), oder doch nur durch das Zerbrechen ihrer Aufhängefäden passiv aus ihrer Lage gerückt (Fig. 6). Der Stärkevorrath wird bei der Contraction nicht verbraucht, er ist auch bei maximaler Verkürzung oft noch ein sehr reichlicher. Selbstverständlich kommen aber auch stärkefreie Zellen mit contrahirten Bändern vor (Fig. 6). Auch die Farbe ist eine rein grüne.

Der Turgor hat nicht abgenommen. Ueberall, wo die Zellen mit contrahirten Bändern an abgestorbene oder durch das Messer geöffnete Zellen grenzen, zeigen sie die hohe Spannung durch die Wölbung der betreffenden Querwand an (Fig. 2, 8 u. 15). Und solches auch beim höchsten Grade der Verkürzung des grünen Bandes (Fig. 6 und 9 *A*.) Stets kann man in solchen Zellen durch plasmolytische Reagentien das Protoplasma in üblicher Weise von der Wand loslösen, wie z. B. in Fig. 16. In dieser Zelle contrahirte sich unter der Einwirkung von 20 proc. Salpeter zuerst der ganze Protoplast, darauf starb dieser und wurde fixirt, und es zog sich die Vacuole jetzt, unter Spaltung in zwei Blasen, weiter zurück. Die Chlorophyllbänder wurden dabei in ihrer Lage

1) Looistofreactien van *Spirogyra*. *Opera II*, S. 307.

nicht merklich geändert. Die Lage in der Figur entspricht dem vor der Beobachtung erreichten Grade der Verkürzung.

Ich beobachtete die Plasmolyse in Zellen mit stark contrahirten Chlorophyllbändern nicht nur in Salpeterlösungen, sondern auch in Glycerin, und am häufigsten in Zuckerlösungen. Letztere benutzte ich auch dazu, um zu erfahren, ob die osmotische Spannkraft vielleicht in messbarer Weise abgenommen hatte. Ich brachte dazu die Präparate in Rohrzuckerlösungen von 5, 10, 15 und 20 pCt. In 5 und 10 pCt. trat keine Plasmolyse ein, ebenso wenig in den normalen Zellen, wie in denen mit stark contrahirten grünen Bändern. In 15 und 20 pCt. wurden dagegen die Zellen in beiden Zuständen plasmolysirt. Die plasmolytische Grenzconcentration war also für beide nahezu dieselbe, die Turgorkraft konnte während der Chlorophyllcontraction nicht merklich abgenommen haben. Leider liess die Ungleichheit der einzelnen Zellen in beiden Gruppen eine genauere Bestimmung nicht zu. Für beide kann man aber, nach obigen Zahlen, annehmen, dass die Turgorkraft zwischen 6 und 9 Atmosphären betrug.

Die Hautschicht bleibt während der Contraction des Chlorophylls impermeabel für Eosin. Ich beobachtete dieses in zahlreichen Fällen, z. B. in der in Fig. 6 abgebildeten Zelle. Ebenso für doppeltchromsaures Kali, welches die Zellen mit contrahirten Bändern in normaler Weise plasmolysirt, ohne zunächst in die Vacuole einzudringen und hier den Gerbstoff niederzuschlagen. Eine Zelle in diesem Reagens ist in Fig. 18 abgebildet; bei *a* ist der Protoplast durch das Salz von der Zellhaut abgehoben, während dieses eindrang. Nachher starb die Zelle, das doppeltchromsaure Kali drang in den Zellsaft ein, und der körnige Niederschlag des Gerbstoffes wurde sichtbar. Und zwar sowohl innerhalb, als ausserhalb der Windungen des Chlorophylls.

Dass die Hautschicht in den Zellen mit contrahirten Bändern noch unverändert ist, geht auch daraus hervor, dass das Chlorophyll nicht zu Blasen, den sogenannten pathologischen Vacuolen, aufschwillt. Solches ist in gestorbenen und in durchschnitttenen Zellen eine ganz gewöhnliche Erscheinung (Fig. 7) und beruht offenbar darauf, dass das Wasser freien Zutritt zu den Bändern erhält.

Der beste Beweis aber für den Satz, dass die Contraction des Chlorophylls ohne Störung der übrigen Glieder der Zelle stattzufinden pflegt, ist wohl das Fortdauern der Körnchenströmung. Dieses habe ich vielfach gesehen und zwar sowohl bei *Spiro-*

gyra nitida, wie bei *Spirogyra communis*; die Schnelligkeit war nicht merklich geringer als in normalen Zellen. Die Bewegung fand sowohl zwischen den Windungen, als an den vom Chlorophyll gänzlich entblössten Enden der Zellen statt. Ein Beispiel ist in Fig. 8 *A*—*C* dargestellt. Man sieht die Bahnen, auf denen die Körnchen schnell fortgeschoben wurden. Die Bahnen wurden selbst seitlich verschoben und verzweigten sich weiter; sie lagen theils im Umkreise der Zelle, theils gingen sie quer durch den Zellsaft hindurch. Das ziemlich einfache Bild, Fig. 8 *A*, war nach wenigen Minuten in Fig. 8 *B* umgewandelt; die Bahnen verschoben und verzweigten sich unter meinen Augen und lieferten bald das Bild, Fig. 8 *C*. Aehnliche Verschiebungen sah ich auch bei sehr starker Contraction des Chlorophylls nicht gerade selten.

Somit dauern der Turgor und die Plasmaströmungen, sowie die Impermeabilität der Hautschicht für Eosin und für plasmolytische Reagentien während der Contraction der Chlorophyllbänder ungeschwächt fort.

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1—9. *Spirogyra nitida*. (Vergr. 280.)

Fig. 1. *A* Chlorophyllbänder einer normalen Zelle; *B* im Anfange der Contraction.
„ 2. Gegenseitige Annäherung der sich contrahirenden Bänder.
„ 3. Dieselbe in der Mitte vollendet.
„ 4. Vereinigung der vier Bänder zu einem einzigen Bande.
„ 5. Die sich zurückziehenden Enden der Chlorophyllbänder hinterlassen feine Körnerlinien.
„ 6. Aeusserst starke Contraction.
„ 7. Eine todte Zelle, deren Chlorophyll zu pathologischen Blasen angeschwollen ist.
„ 8. Bewegung des Körnerplasma in einer Zelle mit stark contrahirten Bändern. 8 *b*. Wenige Minuten später; 8 *c* noch einige Minuten später.

Fig. 9—15. *Spirogyra communis*.

„ 9. *A*, *B*. (Vergr. 100.) Sehr starke Contraction des einzelnen Bandes, *k*. Zellkern.
„ 10—14. (Vergr. 280.) Einschnürung der Vacuole an einer oder mehreren Stellen, durch die sich contrahirenden Windungen.

Fig. 15. (Vergr. 350.) Die Vacuole im oberen Ende der Zelle durch die sich contrahirenden Windungen in zahlreiche kleine getheilt. Bei *d* im optischen Längsschnitt; bei *u* von der Oberfläche gesehen.

Fig. 16—19. *Spirogyra nitida.*

„ 16. (Vergr. 280.) Plasmolyse und Isolirung der Vacuole als zwei Blasen bei starker Contraction des Chlorophylls, in 20 proc. Salpeterlösung.

„ 17. (Vergr. 280.) Isolirung der Vacuole zu zwei Blasen innernerhalb und einer ausserhalb der contrahirten Chlorophyllbänder. In 10 proc. Salpeterlösung.

„ 18. (Vergl. 280.) Anfang der Plasmolyse, in doppeltchromsaurem Kalium. Die Contraction des Chlorophylls ist durch das Reagens nicht verändert. Später entstand der Gerbstoffniederschlag sowohl bei *b*, als innerhalb der Chlorophyllspirale.

„ 19. *A*. (Vergr. 350.) Eine Zelle mit eingeschnürter Vacuole. Man sieht die Falte bei *a*. Nach Zusatz von 20 proc. Salpeterlösung spaltete sich die Falte, und die beiden Platten entfernten sich, wie in *B*, *C* und *D*; sie bildeten darauf je einen Theil der Wand der beiden Saftblasen in Fig. 19 *E*.

(Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, Jrg. 1889, Bnd. VII, Heft 1, S. 19.)

Ueber die Contraction der Chlorophyllbänder bei Spirogyra.

Hugo de Vries, Opera.

Fa. P. W. M. Trap impr.

UEBER DIE PERMEABILITÄT DER PROTOPLASTE FÜR HARNSTOFF.

Aus älteren Versuchen von Hampe, Beyer und Anderen ist bekannt, dass Harnstoff von den Wurzeln verschiedener Pflanzen unverändert aufgenommen werden kann. Werden solche Gewächse (z. B. Mais und Hafer) in Wasserculturen mit dieser Verbindung ernährt, so kann man sie später in Stengel und Blättern nachweisen 1).

Es war von Interesse zu erfahren, ob auch bei plasmolytischen Versuchen sich eine Aufnahme von Ureum in die lebende Zelle würde darthun lassen. Für die meisten Salze, welche von den Wurzeln aufgenommen werden, zeigt sich das lebendige Protoplasma ausgewachsener Zellen in solchen Versuchen impermeabel, d. h. es lässt sie während der Dauer des Versuchs nicht in solcher Menge durch, dass dieses auf plasmolytischem Wege nachweisbar wird.

Plasmolytische Permeabilität wurde zuerst für Glycerin von Klebs nachgewiesen 2). Wir werden sehen, dass diesem Körper der Harnstoff an die Seite zu stellen ist.

Die Beschreibung meiner Versuche fange ich mit dem einfachsten Falle an, nämlich der vorübergehenden Plasmolyse.

Bringt man Schnitte aus der violetten Oberhaut der Unterseite des Blattnerven von *Tradescantia discolor* in Lösungen von Ureum von verschiedener Concentration, so beobachtet man nach einer bis zwei Stunden in den stärkeren Lösungen das Eintreten der Plasmolyse in der gewöhnlichen Weise. In einigen Blättern geht die Erscheinung bis zu 1.5%, in anderen sogar bis etwa 1.2% herab. Wiederholt man nun aber die Musterung der Präparate von Zeit zu Zeit, so sieht man die Plasmolyse allmählich wieder verschwinden. Zunächst in den geringeren Concentrationen. So war sie in einem Falle bei 1.4% schon nach vier, bei 1,5% nach sieben Stunden völlig aufgehoben. Bei 1,7% war dieses nach 12 Stunden der Fall, bei 2.1% nach zwei, und bei 2.7% erst nach vier Tagen. Es

---

1) W. Hampe, Landwirthsch. Versuchsstationen. Bd. IX, 1867. S. 62 und A. Beyer, Ibid. Bd. XI, 1869. S. 272.

2) G. Klebs, Arbeiten des Bot. Instituts in Tübingen, II, S. 489. Vergl. auch meinen Aufsatz über das Glycerin in *Opera II*, S. 484.

dringt also in diesen Versuchen der Harnstoff allmählich durch das Protoplasma in den Zellsaft ein, erhöht hier die osmotische Spannkraft und bewirkt dadurch die Ausdehnung des anfangs contrahirten Protoplasten.

Die osmotische Spannkraft des Zellsaftes, welche etwa 4 Atmosphären beträgt, kann in dieser Weise sehr bedeutend, z. B. auf das Doppelte und mehr erhöht werden. So wurde in Zellen, welche anfangs von 1.3% Ureum plasmolysirt wurden, in drei Tagen aus einer Lösung von 2.7% so viel aufgenommen, dass die Plasmolyse in dieser letzteren völlig verschwand.

Ein längerer Aufenthalt im plasmolysirten Zustande wird bekanntlich leicht schädlich, und in den stärkeren Lösungen von Ureum gehen somit, bei mehrtägiger Dauer der Versuche, stets eine Anzahl von Zellen zu Grunde. Lösungen von solcher Concentration, welche keine Plasmolyse hervorrufen, oder in denen diese in den ersten Stunden vorübergeht, werden ohne Schaden durch längere Zeit ertragen. So waren in Lösungen von 1.7—2.2% die Schnitte noch nach fünf Tagen völlig lebendig. Obgleich jedes Präparat mehrere Hunderte von Zellen enthielt, war noch keine Spur einer schädlichen Wirkung merklich. Eine Wiederholung dieses Versuchs mit einem anderen Blatte ergab dasselbe Resultat.

In den erwähnten Concentrationen ist das Ureum zwar für viele, aber nicht für alle Zellen unschädlich, so z. B. nicht für *Spirogyra nitida* und *communis*.

Vorübergehende Plasmolyse in nicht zu stark plasmolysirenden Lösungen von Ureum beobachtete ich auch in sehr schöner Weise in den rothbraunen Oberhautzellen der Blätter von *Nidularia amazonica*. In ziemlich grossen Präparaten war bei einer Concentration von 2.4% in allen Zellen nach 1½ Stunde der Inhalt von der Zellhaut losgelöst; nach 24 Stunden waren sie aber sämmtlich wieder in den normalen Zustand zurückgekehrt. Dasselbe zeigte sich bei einer Wiederholung des Versuches in einer Lösung von 3.0%. Auch die rothe Oberhaut der Blattscheiden von *Curcuma rubricaulis* zeigte in Lösungen von 2.4, 2.7 und 3.0% dasselbe Verhalten. In den Oberhautzellen der Blattunterseite von *Begonia maculata* trat in 2.7% Ureum anfangs sehr starke Plasmolyse ein, welche aber in den nächsten 24 Stunden wieder nahezu völlig verschwand.

Aehnlich verhalten sich die Parenchymzellen aus dem Marke des Blattes von *Agave americana*, aus der rothen Rinde des Blüthenstiels von *Peperomia violacea* und aus der violette Zellen führenden Rinde der Blattpolster von *Angiopteris Willinkii*. In Lösungen von

2.7% Ureum war in diesen Geweben die Plasmolyse nach 1½ Stunde leicht und deutlich nachzuweisen, nach 24 Stunden war sie aber überall wieder verschwunden.

In den Gewebezellen der höheren Pflanzen ist also das Vermögen Ureum aus schwach plasmolysirenden Lösungen in sehr erheblicher Menge und ohne Schaden für das Leben aufzunehmen, wenigstens sehr weit verbreitet.

Von der Permeabilität für Ureum kann man sich in anderer Weise überzeugen, wenn man die plasmolysirende Wirkung von Lösungen von Ureum mit denjenigen isotonischer Lösungen eines anderen Körpers vergleicht. Ich wählte zu diesem Vergleiche den Rohrzucker. Hat man für irgend ein Gewebe diejenige Concentration des Rohrzuckers ermittelt, welche alle Zellen deutlich, aber schwach plasmolysirt, und bringt man nun ein frisches Präparat aus demselben Gewebe in eine isotonische Lösung von Ureum, so kann Folgendes stattfinden. Entweder geht der Harnstoff nicht in den Zellsaft über, und die Plasmolyse wird in gleicher Stärke eintreten, wie in der entsprechenden Zuckerlösung. Oder es findet eine Aufnahme von Ureum seitens des Zellsaftes statt, welche dessen Turgorkraft erhöht. In diesem Falle werden die Zellen in schwächerem Grade oder wohl auch gar nicht von der betreffenden Lösung plasmolysirt werden.

Ich benutzte zu diesen Versuchen einige Pflanzen, welche in den bisher beschriebenen noch keine Verwendung gefunden hatten, und zwar die rothen Zellen der Blattoberhaut von *Maranta Oppenheimiana*, *Peperomia acuminata* und der Blattbasis von *Vallota purpurea*. Die Zellen dieser Präparate wurden von 14% Rohrzucker in anderthalb Stunden deutlich und überall plasmolysirt.

Es kam nun darauf an, die mit dieser Zuckerlösung isotonische Concentration des Ureums zu ermitteln. Dazu ist die Kenntniss des isotonischen Coëfficienten erforderlich. Ich fand diesen in später zu besprechenden Versuchen zu 1.7. Daraus ergiebt sich, dass 14% Rohrzucker dieselbe osmotische Spannkraft hat, wie 2.7% Ureum [1]).

Jetzt wurden Präparate aus denselben Pflanzentheilen in eine

---

1) Da der isotonische Coëfficient für Rohrzucker 1.88 ist, so sind 1.88 Mol. Ureum isotonisch mit 1.7 Mol. Rohrzucker. Dieses giebt, beim Umrechnen auf Procente, durch Multiplication mit den Molekulargewichten: 1.88×60% Ureum isotonisch mit 1.7×342% Rohrzucker, woraus sich obiges Verhältniss berechnen lässt.

Lösung von 2.7% Ureum gebracht. Weder nach 1½ noch nach 24 Stunden trat Plasmolyse ein bei *Maranta* und *Vallota*, während bei *Peperomia* nur in einigen Zellen die Erscheinung beobachtet wurde. Es war also offenbar die Turgorkraft des Zellsaftes durch Aufnahme von Ureum erhöht worden.

Bringt man Zellen erst in eine schwach plasmolysirende Zuckerlösung und darauf in eine isotonische Lösung von Ureum, so wird das Verschwinden der in ersterer eingetretenen Plasmolyse wiederum ein Beweis für die Aufnahme von Ureum in den Zellsaft sein. Zu diesen Versuchen liess ich die Präparate erst 2—4 Stunden in den Zuckerlösungen, untersuchte dann, in welchem Grade die Plasmolyse eingetreten war, und transportirte nur diejenigen Schnitte, in denen in sämmtlichen Zellen der lebende Inhalt contrahirt war, in die isotonische Harnstofflösung. Meist hatten sich hier nach 24 Stunden die Protoplaste wieder auf das ursprüngliche Volumen ausgedehnt. Nur bei sehr starker Plasmolyse war dazu eine längere Zeit erforderlich. Das erstere Resultat lieferten, beim Uebertragen aus 15.5% Rohrzucker in 3% Ureum die Rindenzellen des Blattstieles von *Geranium anemonaefolium*, die Oberhautzellen des Blattes von *Maranta Oppenheimiana*, die Rindenzellen der Gelenkpolster von *Angiopteris Willinkii* und der Blattstiele von *Peperomia violacea*, und schliesslich die Zellen des Blattmarkes von *Agave americana*. Die rothen Oberhautzellen der Blätter von *Nidularia amazonica* und *Vallota purpurea* liessen die in 14% und 15.5% Rohrzucker eingetretene Plasmolyse in den isotonischen Lösungen von Ureum (2.7 resp. 3.0%) wieder verschwinden, und die violette Oberhaut von *Tradescantia discolor* verhielt sich in derselben Weise beim Transport in isotonische Flüssigkeiten und zwar aus 9% Zucker in 1.8% Ureum, aus 11% Zucker in 2.1% Ureum und aus 12.5% Zucker in 2.4% Ureum. In ersterem Versuche in einem Tage, im zweiten in 2 × 24 und im dritten in 3 × 24 Stunden.

Man kann bisweilen auch beim Transporte in eine stärkere Ureumlösung das Verschwinden der vom Rohrzucker bedingten Plasmolyse beobachten. Ich plasmolysirte z. B. die obengenannten Zellen von *Vallota purpurea* in 14% Rohrzucker und brachte sie darauf in 3% Ureum, welches mit 15.5% Zuckerlösung isotonisch ist. Dennoch verschwand die Plasmolyse innerhalb 24 Stunden völlig.

Die Beweiskraft aller dieser Versuche, in denen die plasmolytische Grenzconcentration in Harnstoff und in Rohrzucker ver-

glichen wurde, beruht offenbar auf der Sicherheit des isotonischen Coëfficienten. Man kann sich aber davon unabhängig machen, indem man das folgende Verfahren einschlägt. Man bringt die Präparate, nachdem die in Rohrzucker eingetretene Plasmolyse im Ureum verschwunden ist, wiederum in die ursprüngliche Zuckerlösung. Jetzt muss der Zellsaft so viel Harnstoff aufgenommen haben, dass nun in dieser keine Plasmolyse eintritt. Man hat dann den directen Beweis, dass durch Aufnahme von Harnstoff, die plasmolytische Grenzconcentration erhöht worden ist.

Bei der Ausführung der Versuche muss der zweite Aufenthalt in der Zuckerlösung offenbar wenigstens ebenso lange dauern wie der erste, sonst könnte das Nichteintreten der Plasmolyse der kürzeren Versuchsdauer zugeschrieben werden. Viel länger darf man den zweiten Aufenthalt aber nicht sein lassen, da offenbar das aufgenommene Ureum wieder allmählich hinausdiffundiren wird, und somit später in der betreffenden Zuckerlösung wieder Plasmolyse eintreten muss.

Nach dieser Methode habe ich die obengenannten Präparate von *Nidularia amazonica*, *Vallota purpurea*, *Angiopteris Willinkii*, und *Agave americana* behandelt. Diejenigen von *Nidularia* beim Transport aus 12.5 und 17. 5% Rohrzucker in 2.4 resp. 3.0% Ureum. Die in ersteren Lösungen in 1½ Stunden eingetretene Plasmolyse verschwand in den letzteren innerhalb 24 Stunden. Darauf wurden die Schnitte in die ursprünglichen Zuckerlösungen zurückgebracht. Nach drei Stunden war in beiden Versuchen noch keine Zelle plasmolysirt; erst nach 24 Stunden fing diese Erscheinung an. Die Präparate der drei anderen Arten wurden aus 17.5% Rohrzucker in 3% Ureum und daraus wieder in 17.5% Rohrzucker gebracht. Der Aufenthalt in den Zuckerlösungen dauerte in beiden Fällen vier Stunden, während des ersteren trat überall Plasmolyse ein, während des letzteren aber nicht. Das bei der Plasmolyse erschlaffte Gewebe von *Agave* war im Ureum wiederum turgescent geworden, und blieb solches beim zweiten Aufenthalte in der Zuckerlösung.

Um eine Erhöhung der Turgorkraft durch Aufnahme von Ureum zu beweisen, ist aber offenbar das Hervorrufen der Plasmolyse in einer Zuckerlösung nicht nothwendig. Man kann die Schnitte auch direct in die Harnstofflösungen bringen, und am Ende dieses Aufenthaltes die osmotische Spannung des Zellsaftes bestimmen, und zusehen, ob diese zugenommen hat oder nicht.

Zu diesem Zweck brachte ich Präparate in schwach-, oder auch

nichtplasmolysirende Lösungen von Ureum, und untersuchte sie nachher in Zuckerlösungen. Ich fand dann in der Regel ihre Turgorkraft zugenommen. Die rothen Zellen von *Vallota purpurea* wurden von 2.7% Ureum nicht, von der isotonischen Zuckerlösung (14%) deutlich plasmolysirt. Als der Schnitt aber 24 Stunden in ersterer Lösung verweilt hatte, reichte die letztere zur Plasmolyse nicht mehr hin. Ebenso verhielt sich das Rindengewebe des rothen Blüthenstieles von *Peperomia violacea*, nur mit dem Unterschiede, dass im Anfange des Versuchs vorübergehende Plasmolyse eintrat. Auch mit *Tradescantia discolor* erhielt ich in mehreren Versuchen ähnliche Resultate.

Die Turgorkraft am Ende des Versuches kann man selbstverständlich mit Lösungen beliebiger Substanzen und auch von höherer Concentration ermitteln. So plasmolysirte ich z. B. Präparate von *Tradescantia discolor* in zwei Stunden in 9 resp. 11% Rohrzucker und sah die Plasmolyse darauf in den isotonischen Ureumlösungen (1.8 resp. 2.1%) verschwinden. Nach drei Tagen hatten die violetten Zellen soviel Harnstoff aufgenommen, dass sie nun die Einwirkung von Salzlösungen, welche mit 3.0 Ureum isotonisch waren (ich benutzte 1.56% Chlornatrium und 2.9% Salpeter) während einer Stunde aushielten, ohne plasmolysirt zu werden. Frische Schnitte in diese Salzlösungen eingetaucht, zeigten nach derselben Zeit ihre Protoplaste bis auf etwa die Hälfte des ursprünglichen Volumens contrahirt.

Vergleichung der Permeabilität für Ureum und Glycerin.

Die mitgetheilten Versuche bringen den Beweis, dass ausgewachsene Zellen der verschiedensten Pflanzen Ureum aus dessen Lösungen aufnehmen können. Und zwar in solchem Maasse, dass dabei innerhalb eines Tages und oft in noch kürzerer Zeit, die osmotische Spannkraft des Zellsaftes in messbarer Weise zunimmt. In dieser Beziehung gilt also dasselbe für Ureum, wie für Glycerin.

Ob diese beiden Verbindungen mit derselben Geschwindigkeit aufgenommen werden, oder welche von ihnen am raschesten in die Protoplaste hinein diffundirt, das lehren uns diese Versuche nicht, Um diese Frage zu beantworten, habe ich einige vergleichende Versuchsreihen angestellt. Ich wählte dazu die bekannten, violetten Zellen der Oberhaut des Blattnerven von *Tradescantia discolor*, deren Verhalten gegenüber Ureum uns aus Obigem, und deren Benehmen in Glycerinlösungen aus meinen früheren Versuchen hinreichend bekannt war.

Mit diesen Zellen machte ich einen Versuch in einer Lösung von 1.8% Harnstoff. Die Präparate wurden, wie immer, aus demselben Blatte und in unmittelbarer Nähe von einander geschnitten und enthielten jedes mehrere Hunderte von Zellen. Zunächst wurden alle Zellen durch einen Aufenthalt von 1¾ Stunden in einer Rohrzuckerlösung von 9%, welche mit 1.8% Ureum isotonisch ist, plasmolysirt. Darauf wurden die Präparate theils in diese letztere Lösung, theils in eine isotonische Mischung von Glycerin und Wasser (2.7%) gebracht.

Nach drei Stunden war im Glycerin die Plasmolyse nahezu, nach 9 Stunden völlig verschwunden; sämmtliche Zellen waren noch am Leben. Im Ureum hatte sich aber die Concentration der Protoplaste nach neun Stunden nicht merklich geändert; hier war sie aber nach 24 Stunden gleichfalls ausgeglichen.

Die Aufnahme des Glycerins war also eine erheblich schnellere, als die des Ureums. Dabei ist zu beachten, dass die beiden Lösungen nahezu dieselbe moleculare Concentration besitzen (0.3 Grammmolecül pro Liter), also in dieser Beziehung gut vergleichbar sind.

Eine Wiederholung dieses Versuchs mit 2.1% (0.35 Molec. pro Liter) Harnstoff, und der isotonischen Lösung von Zucker und Glycerin gab dasselbe Resultat, nur dauerte das Verschwinden der Plasmolyse etwas länger. Auch mit 2.4% (0.4 Mol.) habe ich den Versuch mit gleichem Erfolg wiederholt, doch war hier die Plasmolyse anfangs so stark, dass sie nicht völlig wieder ausgeglichen werden konnte, bevor die Zellen starben.

Verschiedenen Exemplaren entnommene Blätter von *Tradescantia* sind nicht in gleichem Grade permeabel für Ureum. Zu den beiden folgenden Versuchen wählte ich Blätter mit besonders durchlässigen Protoplasten. Zunächst habe ich das Eintreten und Wiederverschwinden der Plasmolyse in sehr schwach hyperisotonischen Lösungen von Glycerin und Ureum verglichen. Ich hatte dazu die Lösungen nach Grammmolecülen dargestellt [1]), um sie bei gleicher molecularer Concentration vergleichen zu können. Wegen der geringen Differenz der isotonischen Coëfficienten (1.78 für Glycerin und 1.70 für Ureum) sind solche Lösungen unter sich auch nahezu isotonisch. Meine Präparate wurden in Lösungen, welche schwächer als 0.21 Mol. waren, weder in Ureum, noch in Glycerin plasmolysirt. In 0.225 Mol. trat wohl im Ureum, aber nicht in Glycerin

1) Ein Grammmolecül = 60 gr. Ureum oder 92 gr. Glycerin pro Liter.

Contraction der Protoplaste in allen Zellen ein. In ersteren war diese nach fünf Stunden ausgeglichen. Die Präparate wurden stündlich beobachtet und verweilten während des Versuchs in kleinen, gut verschlossenen Cylindergläsern, in etwa 5 CC Flüssigkeit. Die Plasmolyse hatte nahezu stets nach der ersten Stunde ihren Höhepunkt erreicht; von da an nahmen die Protoplaste allmählich wieder an Grösse zu, bis sie ihre Zelle wieder ganz ausfüllten. Die dazu erforderlichen Zeiten enthält die folgende Tabelle:

Versuch	Molec. Conc.	Plasmolyse verschwunden im Glycerin	Ureum
I	0.225	—	5 St.
II	0.24	3—4 St.	7 „
III	0.255	3—4 „	7 „
IV	0.27	5 „	12 „
V	0.285	8 „	12—24 St.

In jedem Einzelversuche verschwand somit die Plasmolyse im Glycerin bedeutend schneller als in der entsprechenden Ureumlösung.

In dieser Versuchsreihe fängt die Aufnahme des Plasmolysators schon vor Eintritt der Plasmolyse an, und diese letztere selbst fällt daher im Glycerin schwächer aus als in den isotonischen Lösungen des Harnstoffs. Um dieses zu vermeiden, habe ich in der zweiten Versuchsreihe die Präparate zunächst durch einstündigen Aufenthalt in Salpeterlösungen plasmolysirt. Und zwar für jeden einzelnen Versuch in einer Salpeterlösung, welche mit der in diesem Versuche anzuwendenden Concentration von Glycerin und Ureum nahezu isotonisch war. Die Anordnung war übrigens dieselbe wie im vorigen Versuch; die Präparate wurden stündlich durchmustert.

Versuch	Concentr. d. Salpeterlösg.	Concentr. d. Lösg. v. Glyc. u. Ur.	Plasmol. verschw. in Glycerin	Ureum
I	1.3%	0.225 Mol.	1 St.	4 St.
II	1.4%	0.24 „	2—3 „	4 „
III	1.5%	0.255 „	2—3 „	10 „
IV	1.6%	0.27 „	5 „	10—24 „

Auch hier also wiederum ein viel rascheres Verschwinden der Plasmolyse im Glycerin, wie im Ureum.

. Eine letzte Versuchsreihe habe ich nach einer anderen Methode angestellt. Diese hatte zum Zwecke, in möglichst directer Weise und unter Vermeidung des Rückganges der Plasmolyse, die Quantität

von Ureum resp. Glycerin zu messen, welche aus einer gegebenen Lösung aufgenommen wird. Denn beim Ausgleichen vorher eingetretener Plasmolyse erleiden die Zellen nur zu leicht Veränderungen.

Ich liess somit die Aufnahme aus nichtplasmolysirenden Lösungen stattfinden und bestimmte am Ende die Menge des aufgenommenen, indem ich die Erhöhung der osmotischen Spannkraft in der Zelle mass. Diese Messung aber lässt sich durch Ermittelung des Salpeterwerthes des Zellsaftes vor und am Ende der Versuche in bekannter Weise ausfüren.

Zu der speciellen Beschreibung dieses Versuches übergehend, ist zunächst hervorzuheben, dass ich die Menge von Ureum und Glycerin zu bestimmen suchte, welche in 24 Stunden aus einer Lösung von 0.16 Mol. pro Liter aufgenommen wird. Dazu wurden aus dem Nerven eines Blattes von *Tradescantia discolor* eine Reihe von Präparaten hergestellt. Ein Drittel diente zur Ermittlung der niedrigsten, noch grade plasmolysirenden Concentration des Salpeters. Das zweite Drittel verweilte 24 Stunden in Glycerin, das dritte in Ureum von der angegebenen Stärke. Darauf wurde für die beiden letzteren Gruppen die plasmolytische Grenzconcentration des Salpeters in genau derselben Weise ermittelt, wie am vorigen Tage für die erste Gruppe von Präparaten.

Diese Bestimmung geschah in der Weise, dass die Schnitte in zehn Lösungen von 0.11 bis 0.21 Mol. (etwa 1.0—2.1%) Salpeter, welche um je 0.01 Mol. (0,1%) in Stärke von einander differirten, gebracht wurden. Nach einer Stunde wurde ermittelt, in welchen Lösungen Plasmolyse eingetreten war und in welchen nicht. Nach einer weiteren Stunde und nach Verlauf von 4 Stunden sah ich dann nach, ob die gefundene Grenze sich nicht verschoben hätte. Solches war, beim directen Einbringen in Salpeter nicht der Fall; die Präparate, welche Ureum oder Glycerin aufgenommen hatten, verloren davon im Salpeter selbstverständig allmählig wieder einen Theil, und solches war nach 4 Stunden in der Regel an einer Verschiebung der Grenze sichtbar.

Die folgende Tabelle enthält das Resultat dieses Versuchs. Die mit n überschriebene Spalte enthält die höchsten Concentrationen des Salpeters, bei denen keine Plasmolyse eintrat; die mit p bezeichneten, die niedrigsten Concentrationen, bei denen alle Zellen plasmolysirt waren. In der mittleren Spalte (hp) ist die Concentration angegeben, bei der ungefähr die Hälfte der Zellen nach dem einstündigen Aufenthalt in der Salpeterlösung die Erscheinung der Plasmolyse zeigte.

Nach 24-stündigem Aufenthalt in	n	hp	p	Verschiebung der Grenze um
—	0.13	—	0.14	—
Glycerin	0.19	0.20	0.21	0.065
Ureum	0.16	—	0.17	0.03

Eine Wiederholung dieser Versuche mit einem anderen Blatte ergab:

Nach 24-stündigem Aufenthalt in	n	hp	p	Verschiebung der Grenze um
—	0.12	0.13	0.14	—
Glycerin	0.21	—	—	±0.09 [1]
Ureum	0.15	0.16	0.17	0.03

Auch in diesen beiden Versuchen wurde das Glycerin somit viel rascher aufgenommen als das Ureum.

Als Schlussergebniss dieses Abschnittes können wir also sagen, dass die untersuchten Protoplaste von *Tradescantia discolor* das Glycerin weit rascher aufnehmen als das Ureum, falls beide Substanzen in Lösungen von gleicher molecularer Concentration geboten werden. Eine genaue Ermittelung des Verhältnisses der Aufnahme-Geschwindigkeiten lassen die mitgetheilten Versuche nicht zu. Doch kommt man ihrem mittleren Ergebnisse am nächsten, wenn man die Aufnahmefähigkeit für Glycerin auf etwa das Dreifache von dem entsprechenden Werth für Ureum stellt.

Bei der Beurtheilung dieser Ergebnisse ist die Diffusionsgeschwindigkeit der beiden fraglichen Körper in Betracht zu ziehen. Im Grossen und Ganzen darf man annehmen, dass diese mit zunehmendem Moleculargewicht der diffundirenden Körper fällt [2]. Sie muss somit für Glycerin ($C_3H_8O_3 = 92$) erheblich geringer sein wie für Ureum ($CON_2H_4 = 60$) [3]. Somit kann das raschere Eindringen des Ureums in die lebenden Zellen nicht etwa einer grösseren

---

1) Da aus 0.16 Mol. Glycerin höchstens ebensoviel aufgenommen werden konnte, und dieses mit 0.1 Mol. KNO_3 isotonisch ist.

2) Vergl. R. Sachsse in Chem. Centralblatt. 1874. S. 237 und Naumann, Handbuch der allgemeinen und physikalischen Chemie 1877. S. 595. Ferner W. Nernst, Zeitschr. f. physik. Chemie, Bd. 2. 1888. S. 616.

3) Der Diffusionscoëfficient für Ureum in Wasser ist von Dr. J. D. R. Scheffer bestimmt worden und zu $K = 0.81$ gefunden. Zeitsch. f. physik. Chem. Bd. II. S. 401. Die entsprechende Constante für Glycerin habe ich in der mir zur Verfügung stehenden physikalisch-chemischen Litteratur vergeblich gesucht.

Diffusionsgeschwindigkeit zugeschrieben werden, und es beruht also, aller Wahrscheinlichkeit nach, auf einer physiologischen Eigenschaft der Protoplaste.

Ueber den isotonischen Coëfficienten des Ureums.

Mehrfach habe ich in diesem Aufsatze Versuche angeführt, für welche die Kenntniss dieses Coëfficienten unerlässlich war. Ich möchte deshalb jetzt meine diesbezüglichen Erfahrungen mittheilen.

Zunächst ist dabei eine Schwierigkeit zu beseitigen. Die Bestimmung des isotonischen Coëfficienten ist nur dann nach der üblichen Methode zulässig, wenn die Protoplaste der als Indicator gewählten Pflanze während der Versuchsdauer für die fragliche Substanz nicht in plasmolytisch nachweisbarem Grade permeabel sind. Aus diesem Grunde war diese Bestimmung für Glycerin mit *Tradescantia discolor* nicht möglich, wohl aber mit *Begonia manicata*, deren Protoplaste überhaupt viel weniger permeabel sind als diejenigen der erstgenannten Art.

Nun ist die Permeabilität der Protoplaste bei *Tradescantia* für Ureum bedeutend geringer als für Glycerin. Es fragt sich somit, ob dieser Unterschied hinreichend gross ist, um die Verwerthung dieser Pflanze für unseren Zweck zuzulassen. Meine Versuche haben nun gezeigt, dass sich die Blätter verschiedener Exemplare in dieser Beziehung verschieden verhalten. Ich fand solche, in welchen bereits nach zwei Stunden die in einer sehr schwach hyperisotonischen Lösung anfangs eingetretene Plasmolyse verschwand, und andere, in denen nach vier Stunden noch keine Verschiebung der Grenze sichtbar war. Blätter der letzteren Art sind somit zu diesen Versuchen auszuwählen.

Um mich noch näher zu überzeugen, dass während vier Stunden in solchen Blättern keine merkliche Aufnahme von Ureum stattfand, habe ich einen Versuch in derselben Weise angestellt, wie den zuletzt beschriebenen. Nur dauerte der Aufenthalt in den Lösungen von Ureum hier 4, statt 24 Stunden. Als Controle fügte ich diesem Versuch einen zweiten in Glycerinlösungen von derselben Stärke zu.

Es handelte sich also darum zu erfahren, um wie viel die zur Plasmolyse erforderliche niedrigste Concentration des Salpeters, durch vierstündigen Aufenthalt in einer Lösung von 0.16 Mol. Ureum resp. Glycerin erhöht werden würde. Die Ausführung des

Versuchs war genau dieselbe wie im vorigen Experimente (S. 562). Auch hier bedeutet *n* die höchste, nicht plasmolysirende und *p* die niedrigste, alle Zellen contrahirende Concentration des Salpeters. Die Untersuchung fand statt nach einer Stunde; nach 4 Stunden fand ich aber die Grenzen nicht verschoben.

Nach vierstündigem Aufenthalt in	n	p	Verschiebung der Grenzconc.
—	0.14	0.15	—
Glycerin	0.16	0.17	0.02
Ureum	0.14	0.15	0.00

Es war also durch vierstündiges Verweilen in einer Lösung von 0.16 Mol. Ureum keine, auf plasmolytischem Wege nachweisbare Menge aufgenommen worden, da die Turgorkraft vor und nach diesem Aufenthalte dieselbe war. Im Controlversuch mit Glycerin hatte die osmotische Spannkraft in derselben Zeit aber sehr deutlich zugenommen.

Der beschriebene Versuch war mit einer nichtplasmolysirenden Lösung von Ureum angestellt, und zur Ermittelung des isotonischen Coëfficienten ist die schwächste noch gerade plasmolysirende Concentration aufzusuchen. Letztere liegt selbstverständlich höher als erstere, und wir werden also nur dann die aus unserem Vorversuch abgeleitete Erfahrung anwenden dürfen, wenn wir die Dauer des Aufenthaltes in den Lösungen des Harnstoffs entsprechend kürzer nehmen. Ein- bis zweistündige Versuchsdauer ist somit vorgeschrieben.

Ich komme jetzt zu der Beschreibung der Versuche zur Ermittelung des isotonischen Coëfficienten des Ureums. Diese geschahen in der üblichen, auch früher bereits beschriebenen Weise [1]), und ich verweise deshalb für die Details der Ausführung auf die betreffenden Stellen. Ausser den erwähnten violetten Zellen der *Tradescantia discolor* benutzte ich auch die rothen Oberhautzellen der oberen Blattstielschuppen von *Begonia manicata*. Die Lösungen wurden für jeden Versuch besonders hergestellt.

In den beiden folgenden Tabellen findet man die Concentrationen der die Grenze am nächsten umschliessenden Lösungen, in Grammmolecülen pro Liter ausgedrückt, am Kopfe der einzelnen Spalten. Sie enthielten also im Liter so vielmal 60 gr. Ureum, als diese Zahlen anweisen. Das Resultat der Beobachtungen ist in diesen Spalten

1) *Opera II,* S. 158—172; S. 484.

derart angegeben, dass *n* bedeutet: keine Zelle plasmolysirt; *hp* etwa die Hälfte der Zellen und *p* alle Zellen in diesem Zustande. Aus diesen Beobachtungen ist für jeden Einzelversuch die mit dem Zellsaft isotonische Concentration des Ureums und des Salpeters abgeleitet; sie findet sich unter I. C. eingetragen. Das Verhältniss dieser beiden Zahlen findet man in der letzten Spalte.

	Mol. Ureum									Kalisalpeter							Verhältniss
	0.195	0.210	0.222	0.234	0.250	0.263	0.277	0.299	I. C.	0.11	0.12	0.13	0.14	0.15	0.16	I. C.	
B. I			n	hp	p				0.234		n	n	p	p		0.135	0.577
B. II					n	hp	hp	p	0.270				n	hp	p	0.15	0.556
B. III				n	n	p	p		0.2565			n	hp	p		0.14	0.544
T. I	n	hp	p						0.210	n	hp	p				0.12	0.571

	Mol. Ureum						Kalisalpeter						Verhältniss
	0.285	0.300	0.315	0.330	0.345	I. C.	0.16	0.17	0.18	0.19	0.20	I. C.	
T. II			n	p	p	0.3225		n	n	p	p	0.185	0.574
T. III	n	hp	p	p		0.300	n	n	p	p		0.175	0.583

Im Mittel ist demnach das Verhältniss der isotonischen Concentration 0.5675
der isotonische Coëfficient 1.70

Für die drei ersten Versuche diente *Begonia manicata*, für die drei letzteren *Tradescantia discolor* als Indicator. Die Versuchsdauer war bei B I—III eine, bei T II und T III zwei, bei T I eine Stunde; bei den Versuchen B I—III und T II—III habe ich mich nach vier Stunden überzeugt, dass die Grenze nicht verschoben war. Aus dieser Beobachtung folgt, wie wir oben gesehen haben, dass während des Versuchs keine merkliche Menge von Ureum in den Zellsaft aufgenommen wurde, und dass die Bestimmung des Coëfficienten also in dieser Beziehung völlig zuverlässig ist.

Schluss.

Das Ureum wird, ähnlich wie Glycerin, von den erwachsenen Zellen der verschiedensten Pflanzenarten und Gewebe leicht aufgenommen. Aus wenig-procentigen unschädlichen Lösungen diffundirt

in ihren Zellsaft innerhalb 24 Stunden, oder auch in noch kürzerer Zeit, so viel hinein, dass die Turgorkraft messbar, nicht selten erheblich, grösser wird.

Das Protoplasma der violetten Oberhautzellen von *Tradescantia discolor*, und wahrscheinlich auch dasjenige anderer Pflanzenzellen, ist für Ureum aber nicht in demselben Grade durchlässig, wie für Glycerin. Die Permeabilität für erstere Verbindung scheint eine etwa dreifach geringere zu sein, wie für die letztere.

Der isotonische Coëfficient des Ureums ist 1.70. Er schliesst sich denjenigen der übrigen organischen metallfreien Verbindungen (1.78—2.02) somit in der zu erwartenden Weise an.

Zwischen der sehr geringen Permeablität der meisten Protoplaste für viele Salze und Zuckerarten, und der sehr grossen für Glycerin bildet das Ureum die erste Zwischenstufe. Ohne Zweifel werden noch zahlreiche andere Verbindungsglieder dieser Kette aufgefunden werden.

(Botanische Zeitung 1889, S. 309.)